

MINISTÉRIO DA SAÚDE  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ  
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

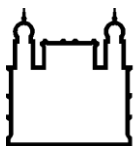
Mestrado em Vigilância e Controle de Vetores

CARACTERIZAÇÃO ECOEPIDEMIOLÓGICA DA LEISHMANIOSE  
VISCERAL AMERICANA NO MUNICÍPIO DE SANTA CRUZ DO SUL,  
RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

LUCAS CORRÊA BORN

Rio de Janeiro  
Agosto de 2022





Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

## **INSTITUTO OSWALDO CRUZ**

**Programa de Pós-Graduação em Vigilância e Controle de Vetores**

*LUCAS CORRÊA BORN*

Caracterização ecoepidemiológica da Leishmaniose Visceral Americana no Município de Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil

Dissertação apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Vigilância e Controle de Vetores

**Orientadoras:** Prof. Dra. Elizabeth Ferreira Rangel  
Prof. Dra. Margarete Martins dos Santos Afonso

**RIO DE JANEIRO**

Agosto de 2022

Corrêa Born, Lucas .

Caracterização ecoepidemiológica da Leishmaniose Visceral Americana no município de Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil / Lucas Corrêa Born. - Rio de Janeiro, 2022.

90 f.; il.

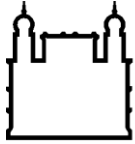
Dissertação (Mestrado Profissional) - Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Vigilância e Controle de Vetores, 2022.

Orientadora: Elizabeth Ferreira Rangel.

Co-orientadora: Margarete Martins dos Santos Afonso.

Bibliografia: f. 59-80

1. Leishmaniose. 2. Flebotomíneos. 3. Rio Grande do Sul. I. Título.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ  
Fundação Oswaldo Cruz

## **INSTITUTO OSWALDO CRUZ**

**Programa de Pós-Graduação em Vigilância e Controle de Vetores**

***AUTOR: LUCAS CORRÊA BORN***

**CARACTERIZAÇÃO ECOEPIDEMIOLÓGICA DA LEISHMANIOSE VISCERAL AMERICANA NO MUNICÍPIO DE SANTA CRUZ DO SUL, RIO GRANDE DO SUL, BRASIL**

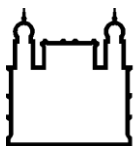
**ORIENTADORAS: Prof. Dra. Elizabeth Ferreira Rangel  
Prof. Dra. Margarete Martins dos Santos Afonso**

**Aprovada em: 09/08/2022**

**EXAMINADORES:**

**Prof. Dr. Reginaldo Peçanha Brazil - Presidente (IOC-FIOCRUZ)**  
**Prof. Dra. Rafaella Albuquerque e Silva (IOC-FIOCRUZ)**  
**Prof. Dr. Edelberto Santos Dias (IRR-FIOCRUZ)**  
**Prof. Dra. Cristina Maria Giordano Dias (IOC-FIOCRUZ)**  
**Prof. Dra. Paloma Helena Fernandes Shimabukuro (IRR-FIOCRUZ)**

Rio de Janeiro, 09 de agosto de 2022



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

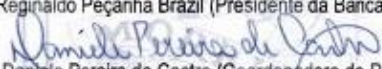


Ministério da Saúde

Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto Oswaldo Cruz

Ata da defesa de dissertação de mestrado profissional em Vigilância e Controle de Vetores de **Lucas Corrêa Born**, sob orientação da Dr<sup>a</sup>. Elizabeth Ferreira Rangel e coorientado pela Dr<sup>a</sup>. Margarete Martins dos Santos Afonso. Ao nono dia do mês de agosto de dois mil e vinte e dois, realizou-se às nove horas e trinta minutos, de forma síncrona remota, o exame da dissertação de mestrado profissional intitulada: "**Caracterização ecoepidemiológica da Leishmaniose Visceral Americana no Município de Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil**", no programa de Pós-graduação em Vigilância e Controle de Vetores do Instituto Oswaldo Cruz, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências - área de concentração: Vigilância de Vetores, na linha de pesquisa: Vigilância, diversidade e biologia de vetores. A banca examinadora foi constituída pelos Professores: Dr. Reginaldo Peçanha Brazil – IOC/FIOCRUZ (Presidente), Dr<sup>a</sup>. Rafaella Albuquerque e Silva – SVS/DF, Dr. Edelberto Santos Dias – FIOCRUZ/MG, e como suplentes: Dr<sup>a</sup>. Cristina Maria Giordano Dias- SES/RJ e Dr<sup>a</sup>. Paloma Helena Fernandes Shimabukuro - FIOCRUZ/MG. Após arguir o candidato e considerando que o mesmo demonstrou capacidade no trato do tema escolhido e sistematização da apresentação dos dados, a banca examinadora pronunciou-se pela APROVAÇÃO da defesa da dissertação de mestrado profissional. De acordo com o regulamento do Curso de Pós-Graduação em Vigilância e Controle de Vetores do Instituto Oswaldo Cruz, a outorga do título de Mestre em Ciências está condicionada à emissão de documento comprobatório de conclusão do curso. Uma vez encerrado o exame, o Presidente da Banca atesta a decisão e a participação do aluno e de todos o membros da banca de forma síncrona remota. A Coordenadora do Programa Dr<sup>a</sup>. Daniele Pereira de Castro, assinou a presente ata tomando ciência da decisão dos membros da banca examinadora. Rio de Janeiro, 9 de agosto de 2022.

  
Dr. Reginaldo Peçanha Brazil (Presidente da Banca):

  
Dr<sup>a</sup>. Daniele Pereira de Castro (Coordenadora do Programa):

## **AGRADECIMENTOS**

A Secretaria da Saúde do Rio Grande do Sul e ao Centro Estadual de Vigilância em Saúde pela autorização para participação no Curso e apoio para a execução deste projeto.

A Daniela Klafke da Secretaria Municipal de Saúde de Santa Cruz do Sul e aos colegas da Coordenadoria Regional de Saúde de Santa Cruz do Sul pelo apoio.

Ao professor Dr. Marcelino Hoppe, coordenador da Estação Meteorológica da Universidade de Santa Cruz do Sul pelas informações e dados meteorológicos.

Aos amigos e colegas de equipe Edmilson Santos, Jáder Cardoso, Marco Antônio Almeida, da Vigilância Ambiental do CEVS, pela parceria, incentivo e conselhos.

Ao colega Getúlio Dornelles do LACEN/RS, pelo apoio e ensinamentos na identificação taxonômica.

A Lúcia Mardini, Tânia Wilhelms e Aline Campos pelo apoio total na Chefia da Divisão de Vigilância Ambiental do CEVS.

Ao colega Marcelo de Moura Lima, que trabalhou comigo nas triagens, identificações e todas as capturas necessárias para o projeto; e um especial agradecimento à sua mãe Maria Aparecida Moura.

A minha orientadora Dra. Elizabeth Ferreira Rangel e a minha co-orientadora Dra. Margarete Afonso pela oportunidade, incentivo, ensinamentos e orientações.

A toda equipe do LIVEDIH/IOC, em especial a Dra. Simone Costa, ao Dr. Maurício Vilela e ao meu colega de mestrado Antônio Luís Santana pela cooperação e ensinamentos. A Adriana Zwetsch pelo suporte enquanto estava na coordenação adjunta do Laboratório de Referência.

A equipe do Laboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas do IOC/FIOCRUZ pela colaboração, especialmente a Dra. Thaís Pereira e a professora Dra. Daniela de Pita Pereira, que também contribuiu com orientações na banca de qualificação.

A todos os professores e aos colegas Bruna, Luiz, Sheila, Thamiris e Yetsenia, da turma da Ecologia das Leishmanioses de 2018, pela inspiração, incentivo, apoio e ensinamentos.

A todos professores das disciplinas que cursei no Instituto Oswaldo Cruz.

A Helenice Andrade e a Secretaria Acadêmica da PGVCV.

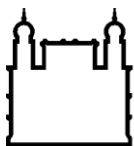
A todos os colegas da PGVCV, pela parceria, ensinamentos e trocas de experiência profissional. Aprendi muito com vocês!

Aos moradores de Santa Cruz do Sul que gentilmente permitiram acesso para execução das capturas peridomiciliares, sempre nos apoiando.

A Viviane Kanashiro pelo amor, companheirismo, paciência, incentivo e essencial ajuda com meus bancos de dados e conhecimentos de Excel e Word.

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





Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

## INSTITUTO OSWALDO CRUZ

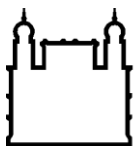
### CARACTERIZAÇÃO ECOEPIDEMIOLÓGICA DA LEISHMANIOSE VISCERAL AMERICANA NO MUNICÍPIO DE SANTA CRUZ DO SUL, RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

#### RESUMO

#### DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM VIGILÂNCIA E CONTROLE DE VETORES

Lucas Corrêa Born

A Leishmaniose Visceral Americana (LVA) é uma zoonose emergente no Rio Grande do Sul. A vigilância de vetores e reservatórios caninos são essenciais para a caracterização epidemiológica de uma localidade. Devido aos casos caninos autóctones, o município de Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, é considerado área de transmissão, apesar da ausência de casos humanos e não detecção das principais espécies vetoras: *Lutzomyia longipalpis* e *Lutzomyia cruzi*. Este trabalho teve como objetivo caracterizar a ecoepidemiologia da LVA em Santa Cruz do Sul, através de um estudo entomológico e do monitoramento de casos caninos, visando contribuir para vigilância em saúde do estado. Foram selecionados cinco domicílios, considerados local provável de infecção de casos caninos. Em um raio de até 50 m destes, foram definidas as estações de monitoramento, nas quais foi instalada uma armadilha de isca luminosa HP, no peridomicílio ou em locais propícios ao vetor. As capturas foram realizadas mensalmente, por três noites consecutivas, entre janeiro e dezembro de 2020. Adicionalmente, foram realizadas, mensalmente, capturas com Armadilha de Shannon e capturas manuais com aspiradores de Castro. Os flebotomíneos foram identificados e descritos por abundância e frequência mensal, sendo os resultados correlacionados com dados climáticos. As fêmeas foram submetidas ao diagnóstico de *Leishmania* sp. e pesquisa de conteúdo alimentar através de técnicas moleculares. Os casos caninos notificados foram monitorados quanto ao número e localização. Foram capturados 381 flebotomíneos pertencentes a seis gêneros. As espécies encontradas foram: *Brumptomyia cunhai*, *Brumptomyia nitzulescui*, *Evandromyia edwardsi*, *Evandromyia gaucha*, *Martinsmyia alphabetica*, *Migonemyia migonei*, *Pintomyia fischeri*, *Psathyromyia lanei*, *Psathyromyia pascalei*. As espécies de importância médica capturadas em maior número foram o *Mg. migonei* e *Pi. fischeri*. Estas espécies foram capturadas em todas as estações de monitoramento e em todos os meses, com exceção de julho e setembro, em que nenhum flebotomíneo foi capturado. Não foi encontrado DNA de *Leishmania* sp. nas fêmeas analisadas. A pesquisa de conteúdo alimentar, realizada em oito fêmeas, revelou DNA da espécie *Gallus gallus* em um exemplar de *Pi. fischeri*. Durante o período do estudo foram diagnosticados 28 casos caninos, todos na área urbana do município. Os resultados sugerem que a transmissão entre cães na área urbana de Santa Cruz do Sul ocorre na ausência de *Lu. longipalpis* e *Lu. cruzi*. As espécies *Mg. migonei* e *Pi. fischeri* parecem ser os vetores responsáveis pela transmissão. Ressalta-se a necessidade de revisão das estratégias de vigilância e controle da LVA no estado e no Brasil.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

## INSTITUTO OSWALDO CRUZ

### ECOEPIDEMIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF AMERICAN VISCERAL LEISHMANIASIS IN THE MUNICIPALITY OF SANTA CRUZ DO SUL, RIO GRANDE DO SUL, BRAZIL

#### ABSTRACT

#### MASTER DISSERTATION IN SURVEILLANCE AND CONTROL OF VECTORS

Lucas Corrêa Born

American Visceral Leishmaniasis (AVL) is an emerging zoonosis in Rio Grande do Sul. Surveillance of vectors and canine reservoirs are essential for the epidemiological characterization of a locality. Due to the autochthonous canine cases, the municipality of Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, is considered an area of transmission, despite the absence of human cases and the lack of detection of the main vector species: *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia cruzi*. The purpose of this study is to characterize the ecoepidemiology of AVL in Santa Cruz do Sul, through an entomological research and monitoring of canine cases, aiming to contribute to the health surveillance of the state. Five households considered probable sites of infection of canine cases were selected. In a radius of up to 50 m from these, five monitoring stations were set with one HP light bait trap each, installed in the peridomicile or in places favorable to the vector. Captures were carried out monthly, for three consecutive nights, from January to December, 2020. Additionally, captures in a Shannon Trap and manual captures with Castro aspirators were carried out monthly. The sand flies species were identified and described by abundance and monthly frequency, and the results were correlated with climatic data. The females were submitted to the detection of *Leishmania* sp. and food content research through molecular techniques. The number and location of reported canine cases were monitored. A total of 381 sandflies belonging to six genera were captured. The species found were: *Brumptomyia cunhai*, *Brumptomyia nitzulescui*, *Evandromyia edwardsi*, *Evandromyia gaucha*, *Martinsmyia alphabetica*, *Migonemyia migonei*, *Pintomyia fischeri*, *Psathyromyia lanei* and *Psathyromyia pascalei*. The most numerous species of medical importance were *Mg. migonei* and *Pi. fischeri*. These species were captured in every monitoring stations and in all months, except July and September, when no sand flies were captured. DNA of *Leishmania* sp. was not found in any of the females analyzed. The food content research was carried out in eight females and revealed DNA of *Gallus* species in a specimen of *Pi. fischeri*. During the study period, 28 canine cases were diagnosed, all in the urban area of the municipality. The results suggest that the transmission between dogs in the urban area of Santa Cruz do Sul occurs in the absence of *Lu. longipalpis* and *Lu. cruzi*. The species *Mg. migonei* and *Pi. fischeri* seems to be the vectors responsible for the transmission. We emphasize the need to review surveillance and control strategies for AVL in the state and in Brazil.

# ÍNDICE

<b>RESUMO</b>	<b>VII</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>VIII</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
<b>1.1 As Leishmanioses</b> .....	<b>1</b>
1.1.1 A Transmissão das Leishmanioses .....	1
1.1.2 Os Vetores nas Leishmanioses .....	1
1.1.3 Os Hospedeiros e Reservatórios nas Leishmanioses .....	2
1.1.4 As Leishmanioses em Humanos .....	3
<b>1.2 A Leishmaniose Visceral</b> .....	<b>4</b>
1.2.1 A Leishmaniose Visceral Americana .....	5
<b>1.3 As Leishmanioses Cutânea e Mucocutânea</b> .....	<b>9</b>
1.3.1 A Leishmaniose Tegumentar Americana .....	11
<b>1.4 A Vigilância das Leishmanioses nas Américas</b> .....	<b>12</b>
1.4.1 A Vigilância da LVA no Brasil .....	13
1.4.2 A Vigilância da LTA no Brasil .....	16
<b>1.5 As Leishmanioses no Rio Grande do Sul</b> .....	<b>17</b>
1.5.1 A LVA no Rio Grande do Sul .....	17
1.5.2 A LTA no Rio Grande do Sul .....	20
<b>1.6 Justificativa</b> .....	<b>21</b>
<b>2 OBJETIVOS</b>	<b>23</b>
<b>2.1 Objetivo Geral</b> .....	<b>23</b>
<b>2.2 Objetivos Específicos</b> .....	<b>23</b>
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>24</b>
<b>3.1 Área do Estudo</b> .....	<b>24</b>
<b>3.2 Monitoramento Entomológico</b> .....	<b>25</b>
3.2.1 Definição das Estações de Monitoramento .....	25
3.2.2 Descrição das Estações de Monitoramento .....	26
3.2.3 Capturas em Armadilhas de Isca Luminosa .....	28
3.2.4 Capturas em Armadilha de Shannon .....	29
3.2.5 Capturas Manuais .....	30

3.2.6	Dados Climáticos .....	31
<b>3.3</b>	<b>Processamento e Identificação dos Flebotomíneos .....</b>	<b>31</b>
<b>3.4</b>	<b>Análise da Abundância, Dominância e Diversidade das Espécies.....</b>	<b>32</b>
<b>3.5</b>	<b>Diagnóstico Molecular de <i>Leishmania</i> sp. e Pesquisa de Conteúdo Alimentar .....</b>	<b>32</b>
3.5.1	Extração do DNA.....	33
3.5.2	Reação em Cadeia de Polimerase.....	33
3.5.3	Hibridização Dot-Blot.....	34
3.5.4	PCR/Sequenciamento para Pesquisa do Conteúdo Alimentar.....	34
<b>3.6</b>	<b>Monitoramento dos Casos Caninos .....</b>	<b>34</b>
<b>3.7</b>	<b>Palestras .....</b>	<b>34</b>
<b>3.8</b>	<b>Aspectos Éticos e Legais .....</b>	<b>35</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>36</b>
<b>4.1</b>	<b>Fauna de Flebotomíneos .....</b>	<b>36</b>
<b>4.2</b>	<b>Distribuição Mensal, Dados Climáticos e Frequência Horária ..</b>	<b>40</b>
<b>4.3</b>	<b>Diagnóstico Molecular de <i>Leishmania</i> sp. e Pesquisa de Conteúdo Alimentar .....</b>	<b>47</b>
<b>4.4</b>	<b>Monitoramento dos Casos Caninos .....</b>	<b>48</b>
<b>4.5</b>	<b>Palestras .....</b>	<b>49</b>
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>51</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>58</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>59</b>
	<b>ANEXO 1 - NOTA INFORMATIVA Nº 227/2018 – CGDT/DEVIT/SVS/MS .....</b>	<b>82</b>
	<b>ANEXO 2 - COMPROVANTE DE CADASTRO NO SISTEMA NACIONAL DE PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO .....</b>	<b>89</b>
	<b>ANEXO 3 - PUBLICAÇÕES .....</b>	<b>90</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1- Municípios com transmissão de leishmaniose visceral humana ou canina e a distribuição de <i>Lutzomyia longipalpis</i> no Rio Grande do Sul, 2021. Fonte: CEVS/SES/RS, 2021.....	19
Figura 2- Municípios com casos humanos autóctones de LTA no Rio Grande do Sul, no período de 2001 a 2020. Fonte: CEVS/SES/RS, 2021.....	21
Figura 3 - Localização do município de Santa Cruz do Sul no estado do Rio Grande do Sul, 2020. Fonte: CEVS/SES/RS, 2020 .....	24
Figura 4 - Localização e vegetação nativa da área urbana de Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020. Fonte: CEVS/SES/RS, 2020. ....	25
Figura 5 - Localização dos casos de Leishmaniose Visceral Canina, diagnosticados no período de 2017 a 2019 e das Estações de Monitoramento do estudo, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020. Fonte: CEVS/SES/RS, 2020 .....	26
Figura 6 - Armadilha de isca luminosa modelo HP utilizada nas capturas em Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020. Fonte: CEVS/SES/RS, 2020. ....	28
Figura 7 - Armadilha de Shannon instalada em Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020. Fonte: CEVS/SES/RS, 2020. ....	29
Figura 8 - Localização da Armadilha de Shannon, Estação de Monitoramento-1 e casos de Leishmaniose Visceral Canina diagnosticados entre 2017 e 2019, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020. Fonte: CEVS/SES/RS .....	30
Figura 9 - Captura manual peridomiciliar com o uso de Aspirador de Castro, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020. Fonte: CEVS/SES/RS, 2020. ....	30
Figura 10 - Fêmea de flebotomíneo ingurgitada (à esquerda) e fêmea não ingurgitada (à direita), capturadas em Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020. Fonte: CEVS/SES/RS, 2020.....	33
Figura 11 - Distribuição das espécies de flebotomíneos capturados em Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020. ....	37
Figura 12 - Correlação de Pearson entre o número de flebotomíneos capturados em armadilhas de isca luminosa e a temperatura média do mês da captura, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020. ....	43

<b>Figura 13 - Correlação de Pearson entre o número de flebotomíneos capturados em armadilhas de isca luminosa e a umidade relativa média do mês da captura, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020.....</b>	<b>43</b>
<b>Figura 14 - Correlação de Pearson entre o número de flebotomíneos capturados em armadilhas de isca luminosa e a precipitação acumulada do mês da captura, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020.....</b>	<b>44</b>
<b>Figura 15 - Distribuição mensal dos flebotomíneos capturados em armadilhas de isca luminosa e dados mensais de temperatura média, umidade relativa do ar média e precipitação total, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020 .....</b>	<b>44</b>
<b>Figura 16 - Distribuição mensal dos flebotomíneos capturados em Armadilha de Shannon, dados de temperatura média e umidade relativa do ar média mensais e dados aferidos <i>in loco</i> no período da captura, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020 .....</b>	<b>45</b>
<b>Figura 17 - Distribuição mensal dos flebotomíneos capturados em Armadilha de Shannon e dados de precipitação total mensal. Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020 .....</b>	<b>46</b>
<b>Figura 18 - Distribuição dos casos de Leishmaniose Visceral Canina diagnosticados em 2020 e das Estações de Monitoramento, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020. Fonte: CEVS/SES/RS, 2020 .....</b>	<b>49</b>
<b>Figura 19 - Palestra para técnicos da Secretaria Municipal de Saúde de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul – RS, 2019. Fonte: CEVS/SES/RS, 2019 .....</b>	<b>50</b>

## **LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1 - Descrição das Estações de Monitoramento onde foram realizadas as capturas em Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020.....</b>	<b>28</b>
<b>Tabela 2 - Distribuição de flebotomíneos capturados de acordo com o método de captura, em Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020 .....</b>	<b>36</b>
<b>Tabela 3 - Distribuição das espécies de flebotomíneos de acordo com o método de captura utilizado, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020 .....</b>	<b>38</b>
<b>Tabela 4 - Índices de abundância ISA e SISA e classificação das espécies mais abundantes capturadas com armadilha de isca luminosa em Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020 .....</b>	<b>38</b>
<b>Tabela 5 - Distribuição das espécies de flebotomíneos capturados em armadilha de isca luminosa, de acordo com a Estação de Monitoramento, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020.....</b>	<b>39</b>
<b>Tabela 6 - Índices ecológicos de diversidade (Margalef), riqueza (Jackknife 1) e dominância (Berger-Parker) das espécies de flebotomíneos capturadas, de acordo com o local de captura, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020. ...</b>	<b>40</b>
<b>Tabela 7- Distribuição mensal dos flebotomíneos capturados de acordo com o método de captura, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020.....</b>	<b>40</b>
<b>Tabela 8 - Distribuição mensal das espécies de flebotomíneos capturados em Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020.....</b>	<b>41</b>
<b>Tabela 9 - Distribuição mensal das espécies de flebotomíneos capturados em armadilhas de isca luminosa em Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020.</b>	<b>41</b>
<b>Tabela 10 - Distribuição mensal das espécies de flebotomíneos capturados em Armadilha de Shannon em Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020.....</b>	<b>42</b>
<b>Tabela 11 - Distribuição das espécies dos flebotomíneos capturados em Armadilha de Shannon de acordo com o horário de captura, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020 .....</b>	<b>47</b>
<b>Tabela 12 - Resultado da pesquisa molecular do conteúdo alimentar de flebotomíneos capturados em Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020.....</b>	<b>48</b>

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CEVS	Centro Estadual de Vigilância em Saúde
CGVT	Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis
DPP	<i>Dual Path Plataform</i> ®
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ELISA	<i>Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay</i>
EM	Estação de Monitoramento
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IOC	Instituto Oswaldo Cruz
ISA	<i>Index of Species Abundance</i>
LIVEDIH	Laboratório Interdisciplinar de Vigilância Entomológica em Diptera e Hemiptera
LC	Leishmaniose Cutânea
LM	Leishmaniose Mucocutânea
LPI	Local Provável de Infecção
LTA	Leishmaniose Tegumentar Americana
LV	Leishmaniose Visceral
LVA	Leishmaniose Visceral Americana
LVC	Leishmaniose Visceral Canina
MS	Ministério da Saúde
OPAS	Organização Pan-americana da Saúde
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
RS	Rio Grande do Sul
SES/RS	Secretaria da Saúde do Estado do Rio Grande do Sul
SISA	<i>Standardized Index of Species Abundance</i>
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SMS	Secretaria Municipal de Saúde
SUCEN	Superintendência de Controle de Endemias
SVS	Secretaria de Vigilância em Saúde
WHO	<i>World Health Organization</i>



# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 As Leishmanioses

As leishmanioses são antropozoonoses de transmissão vetorial causadas por diferentes espécies de protozoários da ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae, gênero *Leishmania* Ross, 1903. Estes parasitos são transmitidos entre hospedeiros mamíferos, principalmente, durante o repasto sanguíneo de fêmeas de insetos denominados flebotomíneos (Forattini, 1973; Brasil, 2014).

Assim como outras doenças tropicais negligenciadas, as leishmanioses são fortemente associadas a populações de baixa renda e países subdesenvolvidos (Alvar et al. 2006; Calderon-Anyosa et al. 2018). Estima-se que cerca de 0,9 a 1,6 milhões de casos novos ocorram anualmente em, ao menos 98 países endêmicos no mundo (Alvar et al. 2012; Burza et al. 2018). A maioria dos focos da doença em humanos ocorrem na América Latina, África, Subcontinente Indiano, Bacia do Mediterrâneo e Oriente Médio (Ready, 2008; Alvar et al. 2012).

### 1.1.1 A Transmissão das Leishmanioses

A *Leishmania sp.* depende do hospedeiro vertebrado e do vetor para completar seu ciclo biológico. O ciclo de transmissão ocorre quando o vetor ingere células contendo o parasito em sua forma amastigota, durante a hematofagia. Caso a espécie de flebotomíneo tenha competência vetorial para a espécie de leishmânia ingerida, o agente irá se multiplicar por divisão binária e evoluir até sua forma flagelada, migrando para a probóscide do inseto. Desta maneira, a forma infectante, denominada promastigota metacíclica, poderá ser inoculada em outro hospedeiro durante novo repasto sanguíneo e, conforme a suscetibilidade deste, invadir macrófagos e se multiplicar em sua forma amastigota, invadindo outras células e causando as diferentes patologias (Pimenta et al. 2018; OPAS, 2019).

### 1.1.2 Os Vetores nas Leishmanioses

Os vetores nas leishmanioses, os flebotomíneos, são insetos pertencentes a ordem Diptera, família Psychodidae, subfamília Phlebotominae. Esses insetos, diferenciam-se dos demais membros da família Psychodidae, principalmente, pela

hematofagia das fêmeas. Além disso, são caracterizados pelo pequeno porte, corpo delgado, pernas esguias e asas alongadas, estreitas e pilosas, que permanecem eretas quando em repouso. São holometábolos, sendo que a ovispostura e o desenvolvimento das formas imaturas ocorrem no solo, em matéria orgânica. Os adultos apresentam dimorfismo sexual e ambos os sexos se alimentam de carboidratos de seivas vegetais. De hábitos noturnos e crepusculares, permanecem durante o dia em tocas de animais, ocos de árvores, fendas e outros abrigos, protegidos das condições climáticas adversas. O voo é, geralmente, curto e saltitante (Forattini,1973; Brazil; Brazil, 2018).

Das mais de 900 espécies descritas no mundo, aproximadamente 70 estão envolvidas na transmissão de leishmânias, um número ainda menor atua na transmissão de arboviroses de importância médica e apenas uma foi incriminada como vetor de *Bartonella facilliformis* Strong et al 1913 (Ready, 2013). É importante destacar que algumas características de reprodução, alimentação, dispersão e comportamento dos flebotomíneos podem variar consideravelmente entre as espécies e influenciar diretamente na epidemiologia das leishmanioses (OPAS, 2019).

A suscetibilidade de um flebotomíneo à infecção por uma espécie de leishmânia depende de diversas interações que ocorrem no trato digestivo do inseto (Kamhawi, 2006). Segundo Killick-Kendrick (1990), a incriminação de uma espécie de flebotomíneo como vetor de determinada espécie de leishmânia depende dos seguintes critérios essenciais: antropofilia e isolamento repetido da mesma espécie de parasito no flebotomíneo e nos pacientes. Além desses, critérios complementares incluem: o hábito de se alimentar no hospedeiro reservatório, distribuição geográfica coincidente com os casos, capacidade de sustentar o desenvolvimento do parasito e a demonstração da capacidade do inseto transmitir o parasita pela picada (Killick-Kendrick, 1990). Esses critérios foram revisados por Ready (2013), que ainda incluiu critérios baseados em modelos matemáticos que demonstrem que a espécie é essencial para manter a transmissão, na presença ou não de outros vetores, e que demonstrem que a incidência da doença diminui após uma significativa diminuição da densidade de picadas do vetor.

### **1.1.3 Os Hospedeiros e Reservatórios nas Leishmanioses**

As leishmanioses são, em sua maioria, zoonoses, onde o ser humano é geralmente um hospedeiro acidental (Ashford, 1996). Mesmo as únicas duas espécies

conhecidas por serem transmitidas facilmente entre humanos, *Leishmania (Leishmania) donovani* e *Leishmania (Leishmania) tropica*, podem infectar outros mamíferos e parecem possuir uma origem zoonótica ainda não devidamente descrita (Ashford, 2000; Burza et al. 2018).

Espécies do gênero *Leishmania* possuem a capacidade de infectar múltiplos hospedeiros, podendo ser encontrados na natureza em diferentes espécies e ordens de mamíferos. Algumas destas espécies de mamíferos podem albergar ou ser reservatório principal ou secundário de uma ou mais espécies de *Leishmania* sp. Quando a espécie hospedeira exerce um papel essencial como fonte de infecção para o vetor e na manutenção do parasito no ambiente, ela é considerada um potencial reservatório (Ashford, 1996; Roque; Jansen 2014b).

O papel de uma espécie hospedeira no ciclo de transmissão pode variar de acordo com o ambiente e tempo (Ashford, 1996, 2000; Roque; Jansen 2014b). Somente estudos parasitológicos e ecológicos locais podem determinar se uma espécie potencial realmente está atuando como reservatório em um determinado ambiente (Roque; Jansen 2014b).

Para determinar se uma espécie de hospedeiro está atuando como reservatório de uma espécie de leishmânia, algumas características podem ser usadas como guias. Entre elas, podemos destacar: ser abundante; apresentar longevidade suficiente para sobreviver a um período sazonal sem transmissão; manter a infecção por um período longo sem apresentar doença aguda e possuir alto parasitismo na circulação periférica, permitindo que o flebotomíneo se infecte durante o repasto sanguíneo (Ashford, 1996, 2000). O vetor também deve apresentar atração ou um grau de dependência do reservatório como fonte de alimentação (Ashford, 1996).

#### **1.1.4 As Leishmanioses em Humanos**

As leishmanioses apresentam amplo espectro de manifestações clínicas, podendo comprometer a pele, mucosas ou vísceras. O curso da doença e as manifestações clínicas variam de acordo com a espécie de parasito envolvida e a resposta imune do hospedeiro (Colmenares et al. 2002; OPAS, 2019).

A Leishmaniose Visceral é considerada a forma mais grave, apresentando alta letalidade quando não tratada. Já a Leishmaniose Cutânea é a mais frequente, sendo caracterizada por uma ou mais lesões na pele. A Leishmaniose Mucocutânea é a forma mais rara, sendo caracterizada por lesões destrutivas nas mucosas das vias

aéreas superiores e responsável por um impacto social devido ao potencial de provocar cicatrizes, estigmas e desfiguração (Alvar et al. 2006; Burza et al. 2018).

O tratamento de todas as formas clínicas é geralmente longo e custoso (Ashford, 2000; Alvar et al. 2006). Existem poucas opções de fármacos, cuja eficácia ainda pode variar de acordo com a região geográfica e a suscetibilidade da *Leishmania* sp. envolvida (Dorlo et al. 2012; Burza et al. 2018). Apesar da toxicidade e efeitos colaterais, os antimoniais pentavalentes ( $Sb^{+5}$ ) seguem sendo a opção de primeira escolha para tratamento das leishmanioses na maioria dos países (Dorlo et al. 2012; OPAS, 2019). Outros protocolos de tratamento são recomendados de acordo com a localidade, espécie de parasito envolvida e estado clínico do paciente. Estes incluem o uso isolado ou combinado de fármaco como a Anfotericina B, Anfotericina B liposomal, Pentamidinas, Miltefosina, entre outros (Dorlo et al. 2012; Burza et al. 2018; OPAS, 2019).

## 1.2 A Leishmaniose Visceral

A Leishmaniose Visceral (LV) é uma doença causada por parasitos do complexo *Leishmania donovani* que acomete, preferencialmente, os órgãos do sistema linfohematopoiético, como fígado, baço, linfonodos e medula óssea (OPAS, 2019; Franssen et al. 2020). A natureza e a severidade dos sinais clínicos das doenças causadas por estes parasitos, bem como os vetores envolvidos na transmissão, variam de acordo com a localidade geográfica do foco e, até mesmo, dentro de uma mesma localidade (Franssen et al. 2020).

Em 2019, foram notificados 13.809 novos casos de LV no mundo. Destes, mais de 90% ocorreram em dez países: Brasil, Etiópia, Eritreia, Índia, Iraque, Quênia, Nepal, Somália, Sudão do Sul e Sudão. Os três países mais afetados foram, respectivamente, Índia, Sudão e Brasil (WHO, 2020). Entre estes, o Brasil apresentou a maior taxa de letalidade, com 7,7% (OPAS, 2020)

Na Ásia e África Oriental, a LV é considerada, predominantemente, uma antroponose, sendo que a espécie associada aos casos é a *L. donovani* Laveran & Mesnil 1903 (Ready, 2014). Nas Américas, Oriente Médio e alguns países da Ásia Central, a doença é causada pela *Leishmania infantum* Nicolle, 1908 (Burza et al. 2018), sendo transmitida, principalmente, como uma zoonose (Ready, 2014; Burza et al. 2018; Franssen et al. 2020).

Alguns estudos sugerem que a introdução de *L. infantum* no Novo Mundo tenha ocorrido durante a colonização europeia nos séculos XV e XVI (Killick-Kendrick et al. 1980; Leblois et al. 2011; Schwabl et al. 2021). Entretanto, não há consenso em relação a origem e taxonomia do agente etiológico da LV endêmico nas Américas, o qual também é referido por alguns autores como uma subespécie, denominada *Leishmania infantum chagasi* (Shaw, 2006; Marcili et al. 2014; Franssen et al. 2020). Essa classificação será adotada nessa dissertação.

Em determinados focos no Norte da África, Índia, Europa e Américas, as espécies do complexo *L. donovani* também tem sido associadas, raramente, a um quadro de leishmaniose cutânea atípica (Aldama Caballero et al. 2013; Thakur et al. 2018). Outro quadro clínico cutâneo associado é a Leishmaniose Dérmica Pós Calazar a qual é caracterizada por máculas e pápulas na pele e ocorre, geralmente após o tratamento e cura de pacientes com LV. A doença é mais comum após infecções por *L. donovani*, porém pode ocasionalmente ser associada a infecções por *L. infantum* (Singh et al. 2011).

Também de forma atípica, a espécie *Leishmania tropica* (Wright, 1903), geralmente associada a casos de leishmaniose cutânea na Ásia e Oriente Médio, pode, raramente, provocar um quadro visceral em cães e humanos (Mebrahtu et al. 1989; Magill et al. 1993; Sacks et al. 1995; Guessous-Idrissi et al. 1997; Mohebbali et al. 2005; Alborzi et al. 2006).

Enquanto em países do Velho Mundo, os vetores de *L. infantum* pertencem à espécies do gênero *Phlebotomus*, no Novo Mundo, o agente etiológico é transmitido sobretudo pelo gênero *Lutzomyia* (Ready, 2014).

### **1.2.1 A Leishmaniose Visceral Americana**

Devido as especificidades em relação a etiologia, vetores e epidemiologia, o agravo é referido como Leishmaniose Visceral Americana (LVA) no Novo Mundo (Brasil, 2014). A doença acomete principalmente menores de 5 anos e maiores de 50 anos, embora a proporção de casos entre 20 e 50 anos tenha aumentado nos últimos anos, representando 36,7% dos casos em 2019 (OPAS, 2020). Também são considerados vulneráveis indivíduos desnutridos ou em condições imunossupressoras, como, por exemplo, pacientes coinfectados com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) ou transplantados (Costa; Costa 2014; OPAS, 2020). O período de incubação médio é de 2 a 6 meses, podendo variar de 10 dias a 24

meses (Brasil, 2017a). Os sinais clínicos característicos são febre de longa duração, perda de peso, astenia, adinamia, hepatomegalia, esplenomegalia e anemia. Sem o diagnóstico precoce ou o tratamento adequado, o quadro clínico pode agravar para caquexia severa, infecções secundárias, hemorragias e morte (Coura-Vital et al. 2014; Brasil 2017a; OPAS, 2020).

A LVA é endêmica em 13 países: Argentina, Bolívia, Brasil, Colômbia, Costa Rica, Equador, El Salvador, Guatemala, Guiana Francesa, Guiana, Honduras, Nicarágua, México, Panamá, Paraguai, Peru, Suriname e Venezuela. Entre 2001 e 2019, foram registrados 65.934 casos novos nas Américas, com uma média 3470 casos por ano. O Brasil é o país mais afetado sendo que, em 2019, foi responsável por 97% das notificações de casos novos na região (OPAS, 2020).

Na América do Sul, a LVA tem apresentado uma expansão geográfica, passando a ocorrer em países como Argentina, Paraguai e Bolívia (OPAS, 2020). Este aumento da área de ocorrência também tem sido observado na Europa, onde a doença que era limitada a região mediterrânea, foi registrada no sul da Alemanha e norte da Itália (Dujardin et al. 2008). A dispersão para novas áreas tem sido relacionada a diferentes fatores como alterações ambientais antrópicas (desmatamento, grandes obras), adaptação dos vetores, migração de pessoas e cães infectados e alterações climáticas (Dujardin et al. 2008; Werneck, 2008; Pasquali et al. 2019).

No Brasil, a LVA também encontra-se em expansão territorial, estando presente nas cinco regiões brasileiras (Brasil, 2021). A região sul foi a última atingida, com os primeiros casos caninos autóctones registrados no Rio Grande do Sul, em 2008, seguido de Santa Catarina, em 2011, e Paraná, em 2012 (Souza et al. 2009; Steindel et al. 2013; Trench et al. 2016). Em 2019, foram confirmados 2.529 casos novos no país, com uma taxa de letalidade de 9%, a mais elevada dos últimos 10 anos. A região nordeste foi a mais afetada, com 49,1% dos casos novos notificados (Brasil, 2021).

Inicialmente considerada uma doença de transmissão rural no país, a partir do final da década de 80, a doença passou a ocorrer em ambientes urbanizados e grandes cidades (Gontijo; Melo 2004; Werneck, 2008). Neste contexto, destaca-se o papel do vetor *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912), que tem mostrado grande adaptação a ambientes domésticos e diferentes condições climáticas (Uribe, 1999; Rangel, 2008; Brasil, 2014; Salomón et al. 2015).

### 1.2.1.1 Os Vetores na LVA

A espécie *Lutzomyia (L.) longipalpis* é o principal vetor de *L. infantum chagasi* nas Américas (De Souza et al. 2017). É encontrada do México à Argentina e tem sua capacidade e competência vetorial amplamente estudadas e descritas (RANGEL; LAINSON; AFONSO, 2018). Na Venezuela, Colômbia e alguns países da América Central, a espécie *Pintomyia evansi* (Nuñez-Tovar, 1924) é considerada um vetor alternativo deste parasito (Paternina et al. 2016).

No Brasil, o agente etiológico *L. infantum chagasi*, é transmitido primariamente por *Lu. longipalpis*, sendo a espécie *Lutzomyia cruzi* (Mangabeira, 1938) considerada vetor secundário. A *Lu. longipalpis* apresenta ampla distribuição no país, demonstrando grande adaptação a diferentes regiões e ambientes (Lainson; Rangel 2005). A espécie *Lu. cruzi* apresentam grande semelhança com *Lu. longipalpis*, sendo as fêmeas indistinguíveis morfologicamente (Dos Santos et al. 1998; Galati, 2003, 2018). Devido a dados epidemiológicos e evidências de infecção natural, a espécie foi incriminada como vetor em alguns municípios do Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (Dos Santos et al. 1998; Pita-Pereira et al. 2008; Missawa et al. 2011; Falcão de Oliveira et al. 2017). Em 2017, a competência vetorial da espécie para *L. infantum chagasi* foi demonstrada experimentalmente, ratificando o papel desta na transmissão do parasito (Falcão de Oliveira et al. 2017).

Devido a ocorrência de casos autóctones de LVA em áreas onde não foi detectada a presença destes vetores, a participação de outras espécies no ciclo de transmissão tem sido sugerida e estudada (Souza et al. 2003).

A espécie *Migonemyia migonei* (França, 1920) é considerada vetor de *Leishmania braziliensis* (Araujo Filho, 1979, Rangel; Lainson 2009) e tem ampla distribuição na América do Sul (Rangel; Lainson 2003; Rangel; Shaw 2018). Esta espécie tem sido associada à focos de transmissão de *L. infantum* no Brasil e na Argentina (de Carvalho et al. 2010; Jansen; Dandrea 2010; Salomón et al. 2010; Silva et al. 2014; Moya et al. 2015; Galvis-Ovallos et al. 2017; Rodrigues et al. 2017). Em 2016, a permissividade da espécie à infecção por *L. infantum* foi verificada e, em 2019, a capacidade de transmitir este parasito para um hospedeiro vertebrado foi demonstrada experimentalmente, ratificando a competência vetorial desta espécie (Guimarães et al. 2016; Dos Santos, 2019).

A espécie *Pintomyia fischeri* (Pinto, 1926) está distribuído em diversos estados no Brasil e tem sido incriminado como vetor permissivo de *L. infantum* e *L. (Viannia)*

sp. (Galvis-Ovallos, 2011; Pita-Pereira et al. 2011; Galvis-Ovallos et al. 2017). Devido à abundância desta espécie e ausência de *Lu. longipalpis* em capturas realizadas em determinados focos de LVC e aos resultados de estudos sobre sua capacidade vetorial, foi sugerido que o *Pi. fischeri* poderia ter um papel relevante na transmissão de *L. infantum* na Grande São Paulo (Galvis-Ovallos, 2011). Em 2017, foi demonstrada experimentalmente a permissividade desta espécie à infecção pelo agente etiológico da LVA (Galvis-Ovallos et al. 2017). Em 2019, ácido desoxirribonucleico (DNA) de *L. infantum* foi detectado em espécimes capturados próximos a focos de LVA em Porto Alegre-RS, onde espécimes de *Lu. longipalpis* não foram encontrados (Rêgo et al. 2019).

Além dessas, já foram sugeridas as possibilidades de outras espécies atuarem na transmissão de *L. infantum* nas Américas, entre elas, *Lutzomyia forattinii* Galati, Rego Jr, Nunes & Teruia, 1985, *Lutzomyia almerioi* Galati & Nunes, 1999, *Evandromyia sallesi* (Galvão & Coutinho, 1939) e *Nyssomyia neivai* (Pinto, 1926) (Galati et al. 1997; Pita-Pereira et al. 2008; San et al. 2009; Saraiva et al. 2009; Dias et al. 2013).

### **1.2.1.2 Os Reservatórios na LVA**

Os cães domésticos são considerados o principal reservatório de *L. infantum* (Miró, López-Vélez, 2018; Otranto; Dantas-Torres, 2013). Além de atraírem o vetor para o domicílio, os cães apresentam alto parasitismo cutâneo, sendo uma fonte de infecção para os flebotomíneos, mesmo quando assintomáticos (Deane & Deane, 1955; Laurenti et al., 2013; Molina et al., 1994; Moreno; Alvar, 2002). O aparecimento de casos caninos em uma localidade geralmente precedem a ocorrência de casos humanos e, em áreas de transmissão, a infecção tem sido mais prevalente em cães do que em pessoas (Brasil, 2014). Os cães tem, ainda, um papel importante na introdução do agente etiológico em áreas indenes (Otranto; Dantas-Torres 2013) e na manutenção da circulação do parasito nas comunidades, em períodos de baixa transmissão vetorial (Fraga et al. 2012). Embora consideradas de menor importância epidemiológica, a transmissão sexual, do macho para fêmea através do sêmen, e a transmissão vertical, da fêmea para seus filhotes, já foram demonstradas experimentalmente, e podem ter relevância na ausência de vetores (Masucci et al. 2003; Rosypal et al. 2005; Silva et al. 2009; Solano-Gallego et al. 2009).



Além do cão, outros mamíferos têm sido apontados como potenciais reservatórios (Roque; Jansen 2014b). Estudos tem sugerido que o gato doméstico pode ter um papel como reservatório urbano, no Brasil e na Europa (Passos et al. 1996; Pennisi and Persichetti 2018; Asfaram et al. 2019). Em nosso país, canídeos silvestres das espécies *Cerdocyon thous* Lineu 1766, *Chrysocyon brachyurus* Illiger 1815 e *Speothos venaticus* Lund 1842, marsupiais das espécies *Didelphis marsupialis* Linnaeus 1748 e *D. albiventris* Lund 1840 e roedores silvestres das espécie *Thrichomys laurentius* Thomas 1904 foram consideradas potenciais fontes de infecção para os vetores (Deane & Deane 1955; Sherlock et al. 1988; Quinnell; Courtenay 2009; Lombardi et al. 2014; Roque; Jansen 2014b; Mol et al. 2015).

### **1.2.1.3 A Leishmaniose Visceral Canina**

Geralmente, a doença no cão é sistêmica e crônica, no entanto há relatos de casos de evolução aguda e grave que podem levar o animal ao óbito em poucas semanas. O período de incubação médio pode variar de 3 a 7 meses. Diferente do quadro clínico apresentado em humanos, a Leishmaniose Visceral Canina (LVC) é caracterizada por lesões cutâneas, como descamação, eczemas, úlceras rasas e pêlo opaco. Nas fases mais adiantadas da doença, podem ser observados apatia, aumento das unhas, esplenomegalia, linfadenopatia, queda de pêlos, dermatites, alterações oftálmicas, coriza, diarreia, hemorragias, edema nos membros, hiperqueratose, paresia dos membros posteriores, vômito e caquexia (Solano-Gallego et al. 2009; Brasil, 2014). Cães infectados podem permanecer sem sinais clínicos por um longo período de tempo, sendo que, no Brasil, estima-se que 40 a 60% de uma população soropositiva, seja assintomática (Brasil, 2014). Assim como ocorre em relação aos casos humanos, a alta prevalência de casos caninos tem sido relacionada com áreas de baixa renda (Coura-Vital et al. 2011).

## **1.3 As Leishmanioses Cutânea e Mucocutânea**

A Leishmaniose Cutânea (LC) e a Leishmaniose Mucocutânea (LM) são doenças causadas por diversas espécies dos subgêneros *Leishmania* e *Viannia* Lainson & Shaw 1987. São caracterizadas por lesões cujas diferentes apresentações clínicas e gravidade podem variar de acordo a suscetibilidade do paciente e as diferentes espécies do parasito (Burza et al. 2018; OPAS, 2019).

A LC típica, geralmente, aparece como uma pápula no local da picada do flebotomíneo que com os meses evolui para uma lesão de formato arredondado, ulcerada e indolor com bordas delimitadas e elevadas e de fundo granulomatoso. A lesão pode ser única ou múltipla com tendência a cura espontânea (Brasil, 2017). Em até 10% dos casos de LC, a doença pode agravar para manifestações mais severas como a Leishmaniose Mucocutânea, Leishmaniose Cutânea Difusa e a Leishmaniose Cutânea Disseminada (Burza et al. 2018).

No Velho Mundo, as espécies associadas a LC são a *L. (L.) major* Yakimoff & Shokhor 1914, *L.(L.) tropica* Wright 1903 e a *L.(L.) aethiopica* Bray, Ashford & Bray 1973, sendo prevalentes na Base do Mediterrâneo, Oriente Médio, Sudeste Africano e no Subcontinente Indiano (Burza et al. 2018). No Novo Mundo, as espécies do subgênero *Leishmania* associadas aos casos são a *L. (L.) mexicana* Biagi 1953, *L. (L.) amazonenses* Lainson & Shaw 1972, *L.(L.) venezuelensis* Bonfante-Garrido 1980, *L. (L.) garnhami* Scorza et al 1979 e *L. (L.) pifanoi* Medina & Romero 1959. O estado de espécie destas duas últimas encontra-se em discussão. As espécies do subgênero *Viannia* relacionadas são a *L. (V.) braziliensis* Vianna 1911, *L. (V.) guyanensis* Floch 1954, *L. (V.) panamensis* Lainson & Shaw 1972, *L. (V.) shawi* Lainson, Braga, de Souza, Pova, Ishikawa e Silveira, 1989, *L (V.) naiffi* Lainson & Shaw 1989, *L (V.) lainsoni* Silveira, Shaw, Braga e Ishikawa 1987, *L. (V.) lindenbergi* Silveira et al 2002, *L (V.) peruviana* Velez 1913 e a *L. colombiensis* Kreutzer et al 1991. A posição taxonômica da última encontra-se em discussão (OPAS, 2019)

A Leishmaniose Mucocutânea é caracterizada por lesões destrutivas metastásicas das mucosas do septo nasal, lábios e palato causada por forte reação imunopatológica. Estima-se que 3 a 5% dos casos de LC desenvolvam posteriormente lesões mucosas (Brasil, 2017). A doença pode ocorrer décadas após a cura clínica de uma LC. O agente etiológico clássico da LM é a *L (V.) braziliensis*, sendo a *L. aethiopica* a espécie responsável pelos casos no Velho Mundo. Entretanto já foram atribuídos casos a *L. (L.) amazonensis* e *L. (V.) guyanensis* (Brasil, 2017; Burza et al. 2018).

A Leishmaniose Cutânea Difusa constitui uma forma clínica rara, porém grave, que evolui com formação de placas e múltiplas nodulações não ulceradas recobrendo grande extensões da pele (Brasil, 2017). No Novo Mundo é associada a infecções por *L. (L.) mexicana* e *L (L.) amazonensis* e, no Velho Mundo, a *L. (L.) aethiopica* (Burza et al. 2018). A Leishmaniose Cutânea Disseminada é uma forma clínica rara

caracterizada por múltiplas lesões papulares ou ulceradas pequenas, podendo ter aparência acneiforme, que acometem vários segmentos corporais. As duas espécies causadoras dessa síndrome são a *L. (V.) braziliensis* e a *L. (L.) amazonensis* (Brasil, 2017).

Estima-se que em torno de 95% dos casos de LC ocorram nas Américas, Bacia do Mediterrâneo, Oriente Médio e Ásia Central. Em 2019, mais de 87% dos casos novos ocorreram em dez países: Afeganistão, Algéria, Brasil, Colômbia, Irã, Iraque, Líbia, Paquistão, Síria e Tunísia (WHO,2020). Em relação a LM, mais de 90% dos casos ocorrem na Bolívia, Brasil, Etiópia e Peru (WHO, 2020).

### **1.3.1 A Leishmaniose Tegumentar Americana**

A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) é uma zoonose que ocorre no Continente Americano, do sul dos Estado Unidos ao norte da Argentina (Brasil 2017b). Entre 2001 e 2019, 1.028.054 casos novos foram notificados a OPAS, com uma média de 54.108 casos por ano, em 17 dos 18 países endêmicos da região (casos da Guiana Francesa são reportados à França). Em 2019, os países que registraram o maior número de casos foram, respectivamente, Brasil, Colômbia e Peru (OPAS, 2020). No Brasil, a doença se distribui por todo território brasileiro ocorrendo em todas as Unidades Federadas. Em 2019, foram notificados 15.484 casos novos no país, sendo a maioria (42,8%) registrados na região Norte (Brasil, 2021).

No Brasil, a LTA apresenta uma diversidade de agentes etiológicos, reservatórios e vetores, sendo observados diferentes padrões de transmissão. Em nosso país, são descritos três padrões epidemiológicos característicos. No padrão silvestre, a transmissão ocorre em área de vegetação primária. O padrão ocupacional ou de lazer, é aquele em que a transmissão é relacionada ao trabalho, atividades agropecuárias, ecoturismo e outras que podem ser associadas a mudanças ambientais. O padrão rural ou periurbano, é associado a ocupação e colonização de encostas e aglomerados em centros urbanos com presença de matas secundárias e residuais, onde o vetor pode apresentar adaptação ao peridomicílio (Brasil 2017b).

#### **1.3.1.1 Os Vetores na LTA**

As principais espécies de flebotomíneos envolvidas na transmissão dos agentes etiológicos da LTA são: *Brichromomyia flaviscutellata* (Mangabeira 1942), *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho 1939), *Nyssomyia umbratillis* (Ward &

Fraiha, 1977), *Nyssomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912), *Psychodopygus wellcomei* Fraiha, Shaw & Lainson, 1971, *Migonemyia migonei*, *Nyssomyia neivai* e *Pintomyia fischeri* (Rangel; Lainson 2009; Brasil, 2017).

No Brasil, de acordo, com o foco e região geográfica, a transmissão de *L. (V.) braziliensis* tem sido relacionada principalmente as espécies, *Ny. intermedia*, *Ps. wellcomei*, *Mg. migonei*, *Ny. neivai* e *Ny. whitmani*. Esta última também é associada a transmissão de *L. (V.) shawi*. O vetor principal de *L. (L.) amazonensis* é o *Bi. flaviscutellata* e a transmissão de *L. (V.) guyanensis* é associada, geralmente, ao *Ny. umbratillis* (Brasil, 2017; Rangel et al. 2018)

### **1.3.1.2 Os Reservatórios na LTA**

Nas Américas, diversas espécies silvestres e domésticas já foram identificadas naturalmente infectadas com leishmânias dermatrópicas (Roque; Jansen 2014a; Brasil, 2017). No Brasil roedores das espécies *Rattus rattus* Linnaeus 1758, *Necromys lasiurus* Lund 1841, *Thrichomys laurentius* e *Sigmodon hispidus* Say & Ord 1825 foram apontados como reservatórios potenciais de *L. (V.) braziliensis* (Roque; Jansen 2014b). A espécie também já foi descrita numerosas vezes infectando naturalmente animais domésticos como cães, cavalos e gatos. Esses animais são considerados hospedeiros acidentais e o MS não recomendada ações de controle específicas (Brasil, 2017).

Roedores silvestres do gênero *Proechimys* Allen 1899 foram classificados como potenciais fontes de infecção de *L. (L.) amazonensis* para os vetores e preguiças da espécie *Choloepus didactylus* Linnaeus 1758 foram consideradas reservatórios potenciais de *L. (V.) guyanensis*. A espécie *L. (V.) naiffi* já foi isolada de tatus da espécie *Dasypus novemcinctus* Linnaeus 1758 e a espécie *L. (V.) shawi* isolada de primatas das espécies *Cebus apela* Linnaeus 1758 e *Chiropotes satanas* Hoffmannsegg 1807 (Roque; Jansen 2014b).

## **1.4 A Vigilância das Leishmanioses nas Américas**

Nas Américas, os objetivos gerais dos programas de vigilância são reduzir a morbidade das leishmanioses, a letalidade da LVA e as deformidades causadas pela LTA. As ações consistem principalmente na coleta e análise de dados referentes aos casos humanos, vetores e, no caso da LVA, reservatórios caninos. As informações

obtidas servem para direcionar as ações de prevenção e controle, otimizando os recursos investidos e adequando as intervenções ao contexto epidemiológico local. Desta maneira, as ações de vigilância permitem identificar e classificar as áreas de risco, monitorar a dispersão das leishmanioses, gerar respostas oportunas e adequadas em situações de transmissão endêmica e surtos, bem como orientar e promover ações de prevenção individual e comunitária, manejo ambiental e educação em saúde (OPAS, 2019).

Devido as características específicas das leishmanioses, elas podem apresentar diferentes padrões de transmissão e ocorrer em diferentes cenários, conforme a localidade ou região (OPAS, 2019). No Brasil, a LVA e a LTA possuem programas de vigilância específicos e são doenças de notificação compulsória, sendo obrigatório para os profissionais de saúde a comunicação da suspeita ou confirmação de casos humanos à autoridade de saúde competente (Brasil, 2017b).

#### **1.4.1 A Vigilância da LVA no Brasil**

Em relação a LVA, a incidência de casos humanos está diretamente relacionada com o número de cães infecciosos e a capacidade vetorial dos flebotomíneos em transmitir o parasita dos cães para os humanos (Dye,1996). Uma vez que humanos são considerados sem importância na manutenção da transmissão, as estratégias para diminuir o risco de transmissão são baseadas no controle da população de vetores e de cães infectados (Werneck, 2014).

No Brasil, o Programa de Controle da LVA visa reduzir a letalidade e a morbidade através do diagnóstico e tratamento precoce dos casos humanos e reduzir o risco de transmissão mediante o controle de reservatórios caninos e vetores. Neste contexto, a vigilância da LVA compreende a pesquisa entomológica e a epidemiologia dos casos humanos e caninos. Podemos destacar entre os objetivos da vigilância: classificar as áreas quanto ao padrão, vulnerabilidade ou receptividade de transmissão; investigar a autoctonia dos casos; investigar óbitos suspeitos de LVA; conhecer a distribuição e monitorar a dispersão dos vetores; favorecer o diagnóstico e tratamento precoce; diagnosticar, prevenir e controlar casos caninos; monitorar a endemia; indicar ações de prevenção de acordo com a situação epidemiológica; desencadear e avaliar ações de controle e monitorar eventos adversos aos medicamentos (Brasil, 2014).

Os municípios ou setores de um município onde esteja ocorrendo transmissão são denominados áreas de transmissão. Os municípios contíguos a estes ou que façam parte do mesmo eixo viário ou, ainda, que tenham grande fluxo migratório são classificados como áreas vulneráveis. Os municípios sem casos, mas onde vetores das espécies *Lu. cruzi* ou *Lu. longipalpis* foram detectados, são classificados como áreas receptivas (Brasil, 2014).

No caso da LVA, a vigilância entomológica é realizada através de levantamentos, investigações e monitoramentos entomológicos. Os levantamentos entomológicos têm como objetivo verificar a presença de *Lu. longipalpis* ou *Lu. cruzi*, em municípios vulneráveis ou áreas de transmissão que não tenham realizado investigações anteriores, e conhecer a dispersão do vetor no município, para direcionar inquéritos sorológicos caninos e orientar as ações de controle. As investigações entomológicas têm o objetivo de verificar a presença de *Lu. longipalpis* ou *Lu. cruzi* em municípios onde o primeiro caso de LVA foi notificado e confirmar a área como de transmissão autóctone (Brasil, 2014).

O monitoramento entomológico visa conhecer a distribuição sazonal e a abundância relativa dos vetores, estabelecendo o período mais favorável para a transmissão e direcionando as medidas de prevenção e controle químico. A presença e a sazonalidade das populações de flebotomíneos em uma região, está ligada aos fatores climáticos e fisiográficos. Um entendimento do comportamento do flebotomíneos na natureza é importante para o desenvolvimento de medidas prevenção e de controle (De Melo Ximenes et al. 1999; Brasil, 2014).

A vigilância dos casos caninos é essencial para caracterizar a situação epidemiológica de uma área, pois o número de animais infectados determina o risco de infecção para humanos em uma localidade (Sifaki-Pistola et al. 2014). A vigilância em cães tem o objetivo de investigar focos, confirmar a autoctonia de casos, alertar a população e serviços de saúde quanto ao risco da transmissão e identificar áreas para implementação de ações de limpeza urbana e manejo ambiental (Brasil, 2014).

O monitoramento canino é realizado através de inquéritos sorológicos amostrais ou censitários. Os inquéritos são realizados em áreas receptivas para verificar a presença do agente etiológico e em áreas de transmissão para avaliar as taxas de prevalência em cada setor. As ações de vigilância e controle recomendadas são: o controle da população de cães errantes, avaliação da prevalência através da

realização de inquéritos sorológicos caninos, busca ativa de casos e a eutanásia dos cães sororreagentes (Brasil, 2014)

Para o diagnóstico, são utilizadas duas técnicas sorológicas sequenciais: o teste imunocromatográfico rápido *Dual Path Platform*® (DPP) e o Ensaio Imunoenzimático (ELISA). O DPP é utilizado para a triagem de cães suspeitos, enquanto que o ELISA é usado para a confirmação dos cães sororreagentes no DPP (Figueiredo et al. 2018). Em áreas de ocorrência do primeiro caso canino autóctone é necessário, ainda, o isolamento e caracterização do parasito (Brasil, 2014)

O controle da LVC é considerado a melhor maneira de reduzir a incidência de casos humanos em um foco (Quinnell; Courtenay 2009). A eficiência da testagem e eliminação de cães infectados na redução da incidência de casos humanos já foi demonstrada em estudos realizados no Brasil (Ashford et al. 1998) e na Itália (Mancianti et al. 1988). Entretanto, essas estratégias não tem se mostrado eficientes em alguns países, entre eles, o Brasil (OPAS, 2019), e como consequência tem sido questionadas (Nunes et al. 2010). A ineficiência tem sido atribuída ao tempo entre detecção e eliminação dos cães infectados, tendência em substituir os cães infectados por cães suscetíveis e a baixa sensibilidade do diagnóstico sorológico nos estágios iniciais da infecção (Coura-Vital et al. 2011; OPAS 2019). Alternativamente, tem sido discutido a implantação do uso de coleiras com deltametrina 4 % como estratégia de controle, as quais tem demonstrado eficiência em repelir os vetores e reduzir a transmissão (David et al. 2001; e Silva et al. 2018).

Em relação a vacinação, todas as vacinas disponíveis comercialmente para cães atualmente não apresentam imunização suficiente para impedir a infecção. Além disso, cães vacinados e infectados permanecem como possível fonte de infecção para os vetores (Velez; Gállego 2020). Desta maneira, as vacinas não têm sido utilizadas como estratégia de saúde pública para controle da LVA (Sevá et al. 2016; OPAS, 2019).

Para proteção individual de cães é recomendado o uso concomitante de coleiras impregnadas ou repelentes tópicos em indivíduos vacinados (Velez; Gállego 2020). O tratamento, apesar de permitido, também não é recomendado como medida de saúde pública para controle da LVA em nosso país (Brasil, 2016). Ainda que evidências científicas indiquem que durante o tratamento ocorra uma redução da infectividade para o vetor (Travi et al. 2018), a ausência de cura parasitológica em cães tratados, bem como os custos financeiros e dificuldades operacionais são

obstáculos para implementação desta estratégia (Chappuis et al. 2007; Brasil, 2016; OPAS, 2019). É importante ressaltar que no Brasil é proibido tratar cães com o uso de drogas utilizadas para tratamento da doença em humanos (Brasil, 2008). Além disso, é recomendado que cães em tratamento sejam mantidos permanentemente com coleiras impregnadas ou repelentes tópicos (Travi et al. 2018; OPAS, 2019).

#### **1.4.2 A Vigilância da LTA no Brasil**

No Brasil, o Programa de Vigilância da LTA tem como objetivo principal diagnosticar e tratar precocemente os casos detectados. A vigilância é feita através da identificação e monitoramento de áreas de importância epidemiológica; investigação e caracterização de surtos; investigação de casos em áreas não endêmicas; monitoramento de casos graves de leishmaniose mucosa; redução de casos de transmissão domiciliar; adoção de medidas de controle e monitoramento de eventos adversos aos fármacos usados no tratamento (Brasil, 2017).

É considerada área de risco de LTA a área com notificação de um ou mais casos nos últimos dez anos e que mantém uma periodicidade na produção de casos. A detecção de um caso de LTA, desencadeia uma investigação epidemiológica para conhecer os dados do paciente; verificar a autoctonia do caso e realizar busca ativa de casos novos. Quando necessário, é realizada pesquisa entomológica, visando a avaliação do local provável de infecção (LPI) para verificar a necessidade de adoção de medidas de controle químico (Brasil, 2017).

A vigilância entomológica da LTA é realizada através de pesquisas em foco e monitoramentos entomológicos e tem como objetivos: conhecer as espécies de flebotomíneos nas áreas de transmissão; determinar a sazonalidade dos vetores e monitorar mudanças nas espécies de flebotomíneos em relação aos seus ambientes naturais. Considerando-se que a transmissão da LTA pode envolver uma ou mais espécies de vetores, a pesquisa deverá utilizar o maior número de métodos disponíveis (Brasil, 2017).

Em relação a hospedeiros e reservatórios, não são recomendadas ações objetivando a vigilância de animais silvestres ou domésticos. Entretanto, em áreas de transição ou de ocorrência concomitante de LTA e LVA, poderá ser necessária a identificação da espécie do parasito (Brasil, 2017).



## 1.5 As Leishmanioses no Rio Grande do Sul

As leishmanioses são doenças emergentes no Rio Grande do Sul. Somente nas últimas duas décadas, esses agravos passaram a ser considerada um problema de saúde pública no estado (Born *et al.*, 2021). Segundo, a estratificação de risco por índice composto do MS, que leva em consideração a média do número de casos novos e a incidência nos últimos três anos, os municípios gaúchos com casos autóctones de LVA ou LTA foram classificados como áreas de transmissão baixa, em 2020 (Brasil, 2021a).

A fauna de flebotomíneos do estado foi pouco estudada. As espécies de flebotomíneos já encontradas no Rio Grande do Sul, são: *Brumptomyia cunhai* (Mangabeira, 1942), *Brumptomyia pintoii* (Costa Lima, 1932), *Brumptomyia nitzulescui* (Costa Lima, 1932), *Evandromyia correalimai* (Martins, Coutinho & Luz, 1970), *Evandromyia cortelezzi* (Brèthes, 1923), *Evandromyia edwardsi* (Mangabeira, 1941), *Evandromyia gaucha* Andrade Filho, Souza & Falcão, 2007, *Expalpillata firmatoi* (Barreto, Martins & Pellegrino, 1956), *Lutzomyia gaminarai* (Cordero, Vogelsang & Cossio, 1928), *Lutzomyia longipalpis*, *Micropygomyia ferreirana* (Barreto, Martins & Pellegrino, 1956) sin. *Lutzomyia borgmeiere* Martins, Falcão & Silva, 1972, *Migonemyia migonei*, *Nyssomyia neivai*, *Nyssomyia whitmani*, *Pintomyia bianchigalatae* (Andrade Filho, Aguiar, Dias & Falcão, 1999), *Pintomyia fischeri*, *Pintomyia misionensis* (Castro, 1959), *Pintomyia monticola* (Costa Lima, 1932), *Pintomyia pessoai* (Coutinho & Barreto, 1940), *Psathyromyia lanei* (Barreto & Coutinho, 1941), *Psathyromyia bigeniculata* (Floch & Abonnenc, 1941), *Martinsmyia alphabetica* (Fonseca, 1932), *Micropygomyia schreiberi* (Martins, Falcão & Silva, 1975) (Di Primio 1937; Dias *et al.* 1997; Da Silva; Grunewald 1999a; Andrade Filho *et al.* 2007; Souza *et al.* 2008).

No Rio Grande do Sul, as leishmanioses tem ocorrido em áreas rurais, periurbanas e urbanas. Na capital Porto Alegre, existe uma sobreposição das áreas de transmissão de LTA e LVA, a qual ocorre predominantemente em área periurbanas com fragmentos de matas residuais (Souza *et al.* 2008).

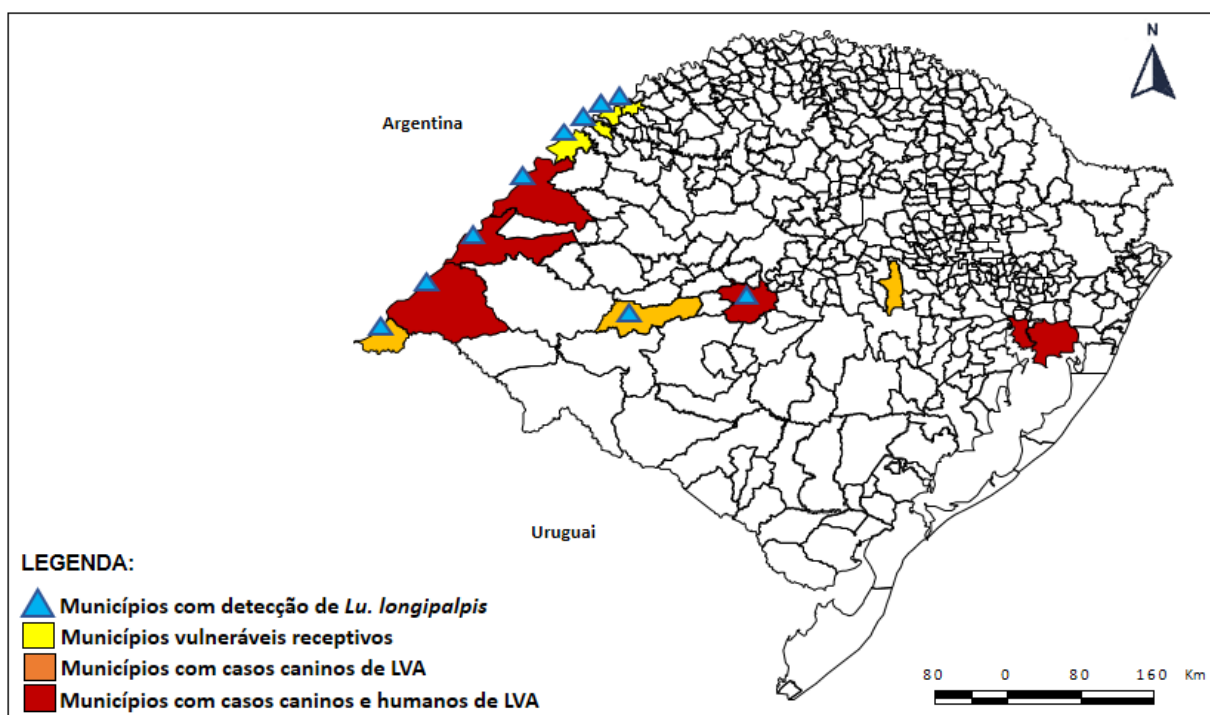
### 1.5.1 A LVA no Rio Grande do Sul

O Rio Grande do Sul foi o primeiro estado da Região Sul do Brasil a registrar casos autóctones de LVA. Embora, casos caninos tenham sido relatados desde 1998

(Pocai et al. 1998; Krauspenhar et al. 2007), o estado passou a ser considerado área de transmissão somente em 2008, quando foi registrado o primeiro caso canino autóctone e detectada a presença de *Lu. longipalpis*, no município de São Borja, na região sudoeste do estado (Azevedo et al. 2009; Souza et al. 2009). Este município está situado na fronteira com a Argentina, próximo a província de Misiones, onde, em 2006, foram registrados os primeiros casos autóctones de LVA argentinos e a presença do vetor *Lu. longipalpis* (Salomón et al. 2012).

Em 2009, o primeiro caso humano autóctone de LVA do estado foi notificado no município de São Borja, na região sudoeste (Souza et al. 2009). Segundo dados não publicados do Centro Estadual de Vigilância em Saúde (CEVS) da Secretaria da Saúde do Estado do Rio Grande do Sul (SES/RS), até a semana epidemiológica 51 de 2021, 43 casos humanos autóctones foram confirmados no estado. Os municípios com casos humanos autóctones registrados são: Porto Alegre (20), São Borja (12), Uruguaiana (04), Viamão (03), Itaqui (02) e Santa Maria (02). Os municípios de Barra do Quaraí, Cacequi e Santa Cruz do Sul apresentam somente casos caninos (CEVS, 2021).

O Rio Grande do Sul apresenta um padrão de transmissão distinto do predominante do país. O vetor *Lu. longipalpis* parece estar restrito a municípios da região oeste do estado (Rêgo et al. 2020). Nesta região, a espécie também é encontrada em municípios sem casos caninos ou humanos registrados (vulneráveis receptivos): Garruchos, Pirapó, Porto Lucena e Porto Xavier. Na região leste do estado, nos municípios de Porto Alegre e Viamão, e em Santa Cruz do Sul, na parte central, a vigilância entomológica não detectou a presença de *Lu. longipalpis* nos focos de transmissão investigados (CEVS, 2021) (Figura 1).



**Figura 1- Municípios com transmissão de leishmaniose visceral humana ou canina e a distribuição de *Lutzomyia longipalpis* no Rio Grande do Sul, 2021. Fonte: CEVS/SES/RS, 2021**

### **1.5.1.1 A LVA em Santa Cruz do Sul**

Com casos de LVC notificados desde 2009, o município de Santa Cruz do Sul passou a ser considerado, oficialmente, área de transmissão somente em 2014, após o isolamento e a identificação do agente etiológico a partir de amostras de pele e medula de cães soropositivos. Embora não tenham sido realizados inquéritos sorológicos na população canina, entre 2014 e 2018, foram submetidos a testes diagnósticos de triagem 703 casos suspeitos de LVC, dos quais 97 foram confirmados. Todos os casos diagnosticados neste período, estavam localizados na área urbana do município (Born et al. 2019).

No período de 2009 a 2019, foram realizadas investigações entomológicas em alguns domicílios com a presença de casos caninos. As espécies já identificadas no município são: *Brumptomyia* spp., *Evandromyia edwardsi*, *Evandromyia gaucha*, *Martinsmyia alphabetica*, *Migonemyia migonei*, *Nyssomyia neivai*, *Pintomyia fischeri*, *Pintomyia monticola*, *Psathyromyia lanei* e *Psathyromyia pascalei* (CEVS, 2020 - dados não publicados). Apesar das espécies *Lu. longipalpis* e *Lu. cruzi* não terem sido encontradas nas investigações realizadas, a metodologia utilizada, baseada somente no uso de armadilhas de isca luminosa por algumas noites, não é suficiente para

classificar a área pesquisada como de transmissão de LVA na ausência destas espécies, conforme os critérios definidos na Nota Informativa Nº 227/2018, do Ministério da Saúde (Brasil, 2018).

Apesar dos casos caninos registrados anualmente desde o primeiro caso reportado em 2009, o município não apresenta notificações de casos humanos de LVA (Brasil, 2021b).

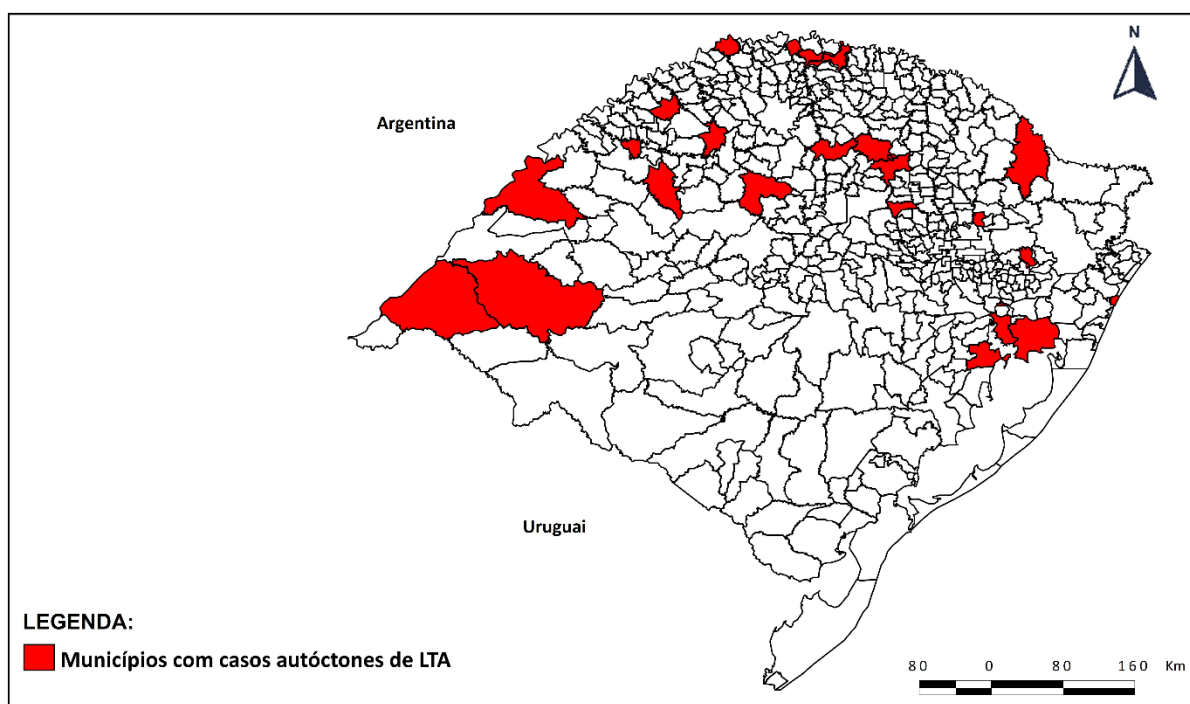
### **1.5.2 A LTA no Rio Grande do Sul**

Em Porto Alegre, no ano 2000, foi diagnosticado um caso de LTA em um paciente que residia há pelo menos dez anos no município. Devido ao histórico clínico de lesão primária no pé e lesão na mucosa oral há mais de 50 anos, quando residia no município de São Nicolau-RS, não foi possível determinar o local de infecção (Thiesen; Brito 2003). Em 2001, o primeiro caso humano autóctone de LTA do estado foi registrado no município de Santo Antônio das Missões, na região noroeste do estado (dos Santos et al. 2005).

Em outubro de 2002, foi diagnosticado o primeiro caso autóctone de LTA na capital Porto Alegre (Thiesen; Brito 2003). Em investigações entomológicas realizadas no LPI dos primeiros casos autóctones do município, foram capturadas as espécies: *Ny. neivai*, *Mg. migonei*, *Pi. pessoai*, *Pa. lanei*, e *Pi. fisheri*, respectivamente, em ordem decrescente de abundância (Duarte; Gonçalves 2003). Posteriormente, em um monitoramento entomológico realizado entre janeiro de 2003 e junho de 2005, na área de risco para LTA do município, as espécies capturadas foram, respectivamente, *Ny. neivai* (59,4%), *Pi. fisheri* (25,2%), *Mg. migonei* (10,3%), *Pa. lanei* (4,6%), *Pi. monticola* (0,3%), *Lu. gaminarai* (0,1%) e *Br. nitzulescui* (0,1%). Neste estudo, o *Ny. neivai* representou 91,6% dos exemplares capturados no intradomicílio, sendo considerado o principal vetor suspeito (Souza et al. 2008). Em 2009, a detecção de DNA de *L. (V.) brasiliensis* em espécimes de *Ny. neivai* e *Pi. fisheri* capturados na área de risco de LTA de Porto Alegre, acrescentou novas evidências sobre a suspeita destas espécies como vetores de LTA no município (Pita-Pereira et al. 2009). Posteriormente, em Porto Alegre, DNA de *Leishmania (Viannia) spp.* foi detectado em espécimes de *Pi. fisheri*, a qual foi a segunda espécie mais abundante (25,2%) em capturas peridomiciliares realizadas em uma área de transmissão de LTA. Neste estudo, foi sugerido que esta espécie estaria atuando como vetor, devido ao

comportamento antropofílico relatado na região e distribuição coincidente com os casos (Pita-Pereira et al. 2011).

Segundo o Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), do Ministério da Saúde, entre 2001 e 2020, foram confirmados 62 casos autóctones de LTA no Rio Grande do Sul. Neste período, os municípios com casos autóctones confirmados foram: Alegrete, Arvorezinha, Barra do Ribeiro, Capão da Canoa, Carazinho, Cruz Alta, Derrubadas, Esteio, Gramado, Iraí, Marau, Nonoai, Nova Roma do Sul, Passo Fundo, Planalto, Porto Alegre, Santa Rosa, São Borja, São Miguel das Missões, Uruguaiana, Rolador, Vacaria e Viamão (Brasil, 2021b) (Figura 2).



**Figura 2- Municípios com casos humanos autóctones de LTA no Rio Grande do Sul, no período de 2001 a 2020. Fonte: CEVS/SES/RS, 2021**

## 1.6 Justificativa

As leishmanioses são doenças emergentes na região do sul do Brasil. Devido à recente introdução da doença, existe uma carência de estudos sobre a fauna de flebotomíneos e a ecologia das leishmanioses no sul do país. Em relação a LVA, alguns municípios do Rio Grande do Sul tem apresentado um padrão de transmissão distinto do predominante nas Américas, com a possibilidade de outras espécies de flebotomíneos estarem assumindo o papel principal de vetor. O estado também apresenta um clima diferenciado em relação a outras regiões do Brasil onde a doença

é historicamente endêmica. Sendo assim, ainda são necessários estudos para entender a influência do clima sobre os flebotomíneos presentes em suas áreas de transmissão.

A possibilidade de *L. infantum chagasi* ser transmitida por outras espécies de flebotomíneos ou ter outros mamíferos como fonte de infecção tem grande importância para as medidas de controle e não deve ser ignorada, principalmente em áreas novas de transmissão. Neste contexto, o diagnóstico molecular de *Leishmania* sp. e a pesquisa do conteúdo alimentar em flebotomíneos capturados em focos de transmissão é de grande importância ecológica e epidemiológica. A detecção do DNA de *Leishmania* sp. em determinada espécie, associada a outros dados sobre competência e capacidade vetorial, permite indicar quais espécies poderiam estar atuando como vetores no município. O estudo do conteúdo alimentar permite ainda, a identificação dos hospedeiros nos quais estes insetos se alimentam, podendo ser correlacionado com potenciais reservatórios e com a antropofilia ou cinofilia da espécie.

Embora o Rio Grande do Sul tenha municípios em que a vigilância entomológica não tenha encontrado *Lu. longipalpis* ou *Lu. cruzi*. Em nenhum deles foi realizado um estudo entomológico de longo prazo conforme recomendado pelo Ministério da Saúde para classificação de uma área de transmissão com ausência destas espécies. O município de Santa Cruz do Sul é a área de transmissão mais antiga nessa situação no estado. Os frequentes casos LVC, associados à falta de dados sobre os vetores e ao risco da doença em humanos, apontam para a necessidade de pesquisas sobre a ecoepidemiologia deste agravo no município.

Estudos sobre os flebotomíneos presentes nas áreas de transmissão aliados ao monitoramento dos casos caninos poderão contribuir para elucidação do ciclo de transmissão do parasito no local e para o desenvolvimento de estratégias de vigilância, prevenção e controle. Considerando que as ações de prevenção e controle descritas no Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral do Ministério da Saúde são recomendadas para áreas com a presença de *Lu. longipalpis* ou *Lu. cruzi*, é fundamental a verificação da presença destes e, caso ausentes, a identificação de vetores permissivos e a discussão de medidas de controle e prevenção específicas.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Caracterizar aspectos da ecoepidemiologia da Leishmaniose Visceral Americana no município de Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, visando contribuir para a vigilância ambiental em saúde.

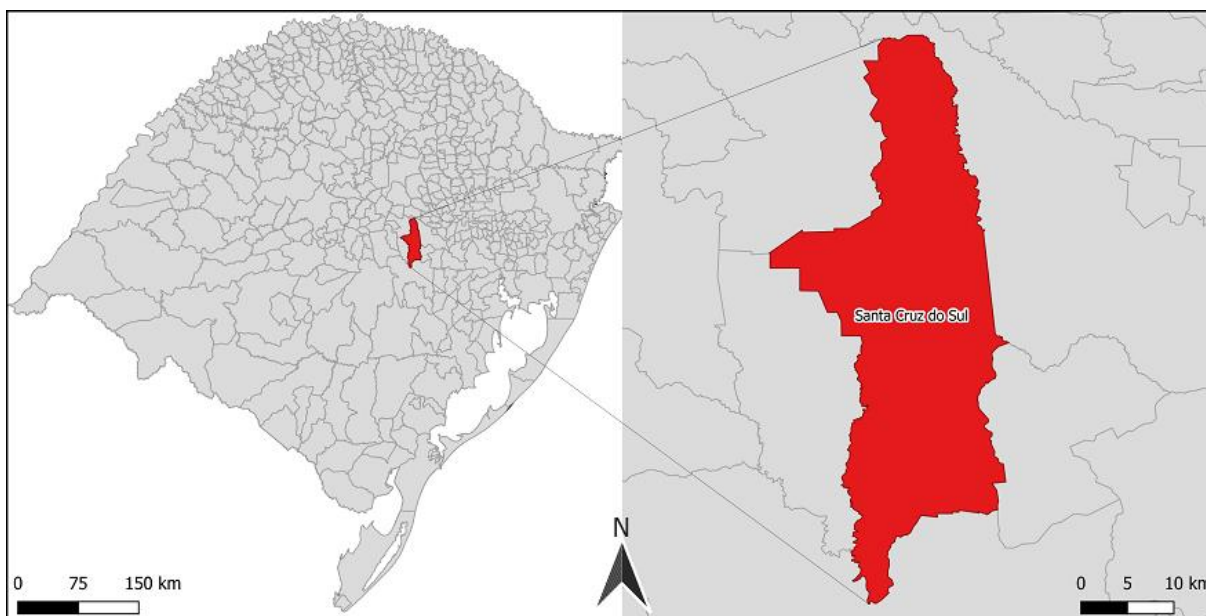
### 2.2 Objetivos Específicos

- Identificar as espécies de flebotomíneos presentes em áreas de transmissão de Leishmaniose Visceral Americana do município;
- Caracterizar a abundância, dominância e diversidade das espécies de flebotomíneos capturadas;
- Descrever a frequência mensal das espécies e correlacionar com dados climáticos;
- Classificar a área de transmissão delimitada para o estudo no município quanto à presença ou ausência de *Lu. longipalpis* e *Lu. cruzi*, conforme critérios estabelecidos pelo Ministério da Saúde;
- Realizar diagnóstico molecular de *Leishmania* sp. nas fêmeas de flebotomíneos capturadas;
- Realizar avaliação do conteúdo alimentar nas fêmeas ingurgitadas capturadas e correlacionar com possíveis reservatórios;
- Monitorar os casos de Leishmaniose Visceral Canina notificados em relação ao número e local de ocorrência.
- Realizar palestras sobre vigilância ambiental da Leishmaniose Visceral Americana, discutir estratégias de prevenção e divulgar os resultados obtidos para os técnicos da Secretaria da Saúde do Estado do Rio Grande do Sul e da Secretaria Municipal de Saúde de Santa Cruz do Sul.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Área do Estudo

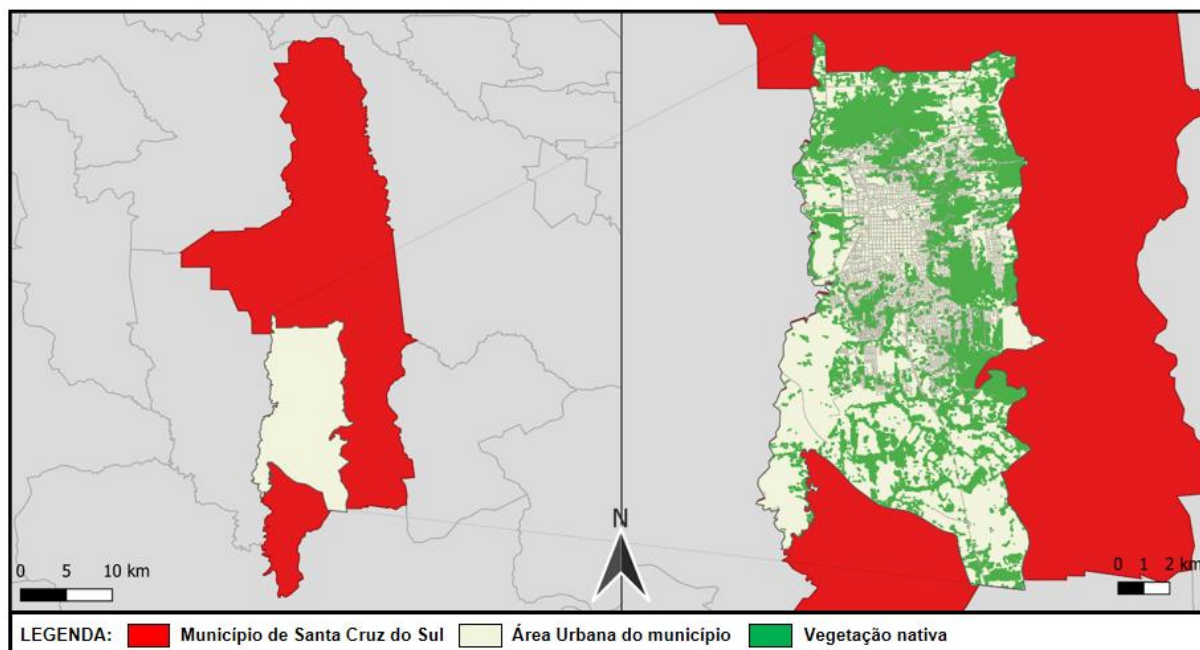
O estudo foi realizado no município de Santa Cruz do Sul, localizado no Vale do Rio Pardo, na região central do estado do Rio Grande do Sul, a 155 km da capital Porto Alegre (Figura 3). O município possui uma população estimada de 131.365 pessoas (IBGE, 2020). A principal fonte de receita, emprego e renda é a produção de tabaco, atingindo cerca de 90% das propriedades rurais. Possui três instituições de ensino superior e é conhecido turisticamente por sediar a *Oktoberfest*, considerada a segunda maior festa germânica do Brasil (Santa Cruz do Sul, 2018).



**Figura 3 - Localização do município de Santa Cruz do Sul no estado do Rio Grande do Sul, 2020. Fonte: CEVS/SES/RS, 2020**

O município possui uma área total de 794,49 km<sup>2</sup>, sendo 156,96 km<sup>2</sup> de área urbana e 637,53 km<sup>2</sup> de área rural (Figura 4). Apresenta 90,3% de domicílios com esgotamento sanitário adequado e 86,3% de domicílios urbanos em vias públicas arborizadas. A vegetação é composta pelos biomas mata atlântica e pampa. Seu relevo é composto por vales, morros e elevações maiores, com uma altitude média de 122 m do nível do mar. De clima subtropical temperado, apresenta temperaturas média de 19°C, máxima de 42°C e mínima de 5°C, com precipitações de 1300 a 1800 mm (Santa Cruz do Sul, 2018).





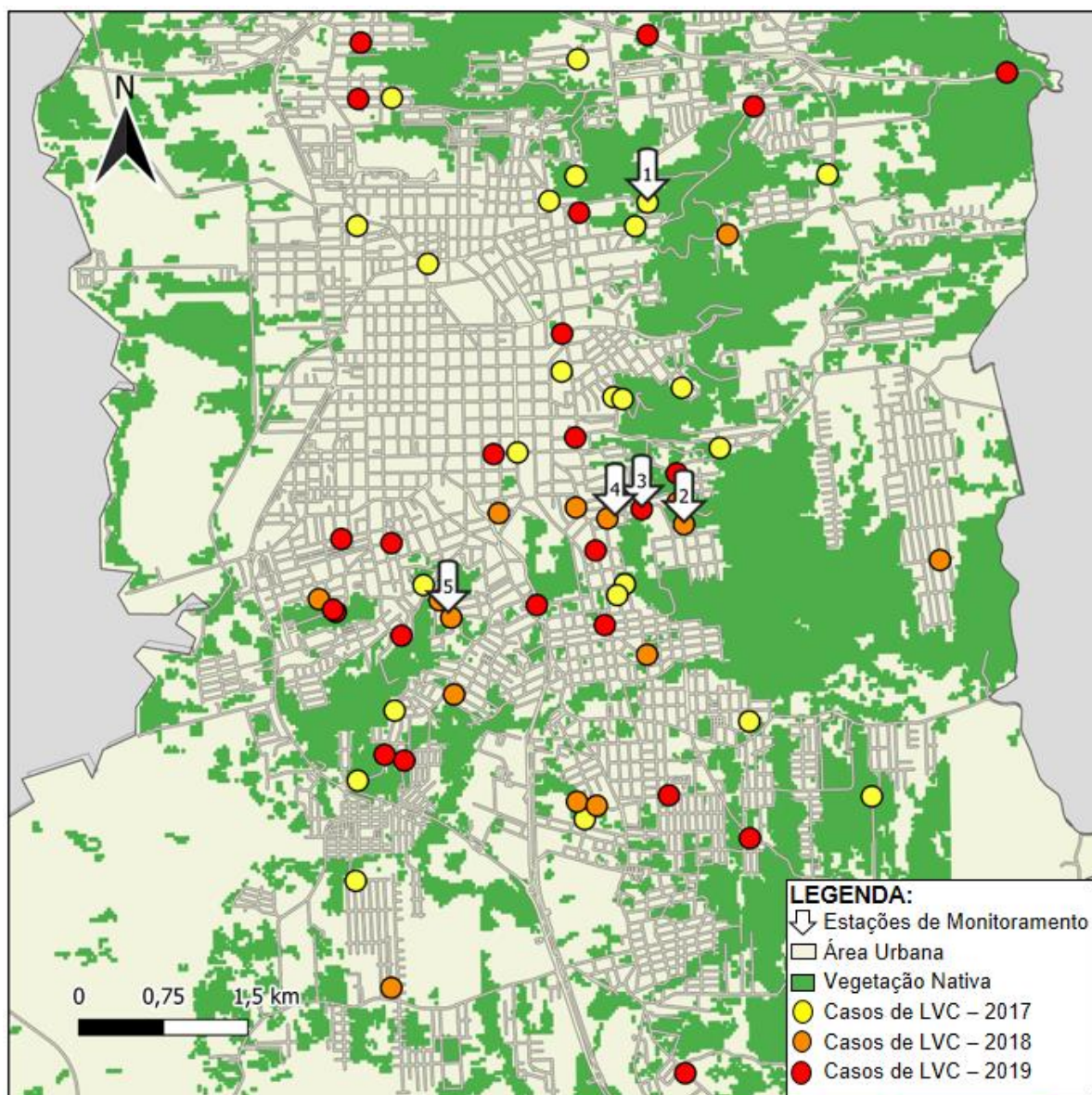
**Figura 4 - Localização e vegetação nativa da área urbana de Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020. Fonte: CEVS/SES/RS, 2020.**

### 3.2 Monitoramento Entomológico

O monitoramento entomológico foi realizado entre janeiro e dezembro de 2020. A metodologia utilizada no monitoramento entomológico foi adaptada da metodologia de investigação entomológica da Nota Informativa Nº 227/2018, do Ministério da Saúde, que informa sobre os critérios para definição de ausência de *Lu. longipalpis* e *Lu. cruzi* em área previamente delimitada para estudo entomológico (Brasil, 2018).

#### 3.2.1 Definição das Estações de Monitoramento

Foram selecionados cinco domicílios considerados LPI de casos de LVC notificados ao CEVS/SES/RS, diagnosticados entre dezembro de 2017 e julho de 2019. Para classificação de um domicílio como LPI, foram adotados os seguintes critérios: deveria ser o único endereço de um cão infectado nascido em Santa Cruz do Sul, desde sua aquisição até o diagnóstico com, no mínimo, 12 meses idade; o cão não deveria ter histórico de pernoite em outro local; o cão deveria ser mantido domiciliado, sem livre acesso à rua. Em cada um dos domicílios selecionados foi definida uma Estação de Monitoramento (EM), localizada no peridomicílio, anexos ou em locais propícios ao aparecimento do vetor localizados até 50 m do LPI (Figura 5).



**Figura 5 - Localização dos casos de Leishmaniose Visceral Canina, diagnosticados no período de 2017 a 2019 e das Estações de Monitoramento do estado, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020. Fonte: CEVS/SES/RS, 2020**

### **3.2.2 Descrição das Estações de Monitoramento**

EM-1: Localizada no bairro Santo Inácio, em um domicílio onde um caso canino foi diagnosticado em dezembro de 2017. O cão permaneceu no local, sendo tratado até ser submetido a eutanásia em janeiro de 2020, devido ao agravamento dos sintomas. No domicílio havia presença de outros quatro cães durante todo período da pesquisa. A armadilha foi instalada na parte posterior da residência, próxima ao abrigo de dois cães e da mata nativa. No local havia grande acúmulo de matéria orgânica e entulhos.

EM-2: Localizada no bairro Monte Verde, em domicílio de um caso canino diagnosticado em dezembro de 2018. O cão permaneceu em tratamento e usando coleira repelente de Deltametrina 4% durante todo o período da pesquisa. Também havia um gato doméstico no local. Como os animais não tinham um abrigo fixo, a armadilha foi instalada na parte posterior da residência, em área com grande acúmulo de entulhos e pedras, possíveis abrigos de roedores. A EM-2 estava localizada a aproximadamente 200 m do Parque da Santa Cruz, ponto turístico do município.

EM-3: Localizada no bairro Margarida, ao lado do domicílio onde um caso canino foi diagnosticado em julho de 2019. O cão veio a óbito antes do início da pesquisa e não haviam outros animais domésticos no domicílio. A armadilha de isca luminosa foi instalada dentro da mata nativa a cerca de 5 m do LPI, em frente a um oco de árvore. As capturas manuais foram realizadas no domicílio vizinho ao LPI, por apresentar um ambiente com características mais favoráveis aos flebotomíneos, com presença de dois cães, um gato e possíveis abrigos para animais sinantrópicos.

EM-4: Localizada no bairro Arroio Grande, em um terreno com pomar e horta, localizado a cerca de 50 m do LPI de um caso canino diagnosticado em dezembro de 2018. O cão foi submetido a eutanásia antes do início da pesquisa. A escolha deste local foi baseada nas condições ambientais mais favoráveis aos flebotomíneos do que aquelas encontradas no LPI. A armadilha de isca luminosa foi instalada em um local com grande acúmulo de matéria orgânica, próxima a bananeiras, árvores frutíferas e entulhos que poderiam servir de abrigos a aves e animais sinantrópicos.

EM-5: Localizada no bairro Ana Nery, em um sítio, vizinho ao domicílio onde dois casos caninos foram diagnosticados em julho de 2018. Os cães permaneceram em tratamento e usando coleira repelente de Deltametrina 4% durante o período da pesquisa. O local foi escolhido por apresentar condições ambientais mais favoráveis ao vetor que as encontradas no LPI. No ambiente haviam fragmentos de mata nativa, bananeiras, árvores frutíferas, horta, grande número de aves engaioladas, galinheiro, presença de quatro cães e um gato. Os moradores relataram a presença de marsupiais, ouriços e roedores no local. A armadilha de isca luminosa foi instalada na parte externa de um galinheiro, localizado a cerca de 50 m do LPI.



**Tabela 1 - Descrição das Estações de Monitoramento onde foram realizadas as capturas em Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020**

Local	Caracterização Ambiental	Coordenadas Geográficas (WGS84)	Altitude (m)
EM-1	Parede externa do domicílio, próximo ao abrigo de cães e gatos. Borda da mata nativa.	29°42'5.64"S e 52°24'55.53"O	107
EM-2	Parede externa do domicílio, próximo a entulhos. Presença de cão e gato.	29°43'39.14"S e 52°24'44.79"O	188
EM-3	Peridomiciliar, dentro da mata nativa, em frente a oco de árvore. Próximo ao abrigo de cães e gatos.	29°43'34.14"S e 52°24'58.78"O	139
EM-4	Peridomiciliar, com horta, árvores frutíferas, bananeiras e entulhos.	29°43'36.41"S e 52°25'8.76"O	112
EM-5	Peridomiciliar, em galinheiro. Criação de outras aves, cães e gatos.	29°44'5.17"S e 52°26'4.61"O	129

### **3.2.3 Capturas em Armadilhas de Isca Luminosa**

Em cada EM foi instalada uma armadilha de isca luminosa modelo HP (Pugedo et al. 2005), sendo posicionada a uma altura de, aproximadamente, um metro do solo (Figura 6). As armadilhas foram expostas por três noites consecutivas por mês, permanecendo ligadas ininterruptamente, entre as 17:00 e as 8:00 horas do dia seguinte.



**Figura 6 - Armadilha de isca luminosa modelo HP utilizada nas capturas em Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020. Fonte: CEVS/SES/RS, 2020.**

### **3.2.4 Capturas em Armadilha de Shannon**

Adicionalmente, foram realizadas capturas em Armadilha de Shannon (Shannon, 1939) em um ponto localizado em uma trilha na mata nativa, a cerca de 50 m da EM-1. O local foi escolhido por ter menor competição de luzes artificiais e estar próximo ao abrigo de cães (Figura 7 e 8).

As capturas foram realizadas mensalmente, no período de 18:00 às 22:00 horas. O procedimento foi realizado por dois técnicos simultaneamente, um localizado na parte interna e outro na parte externa da barraca. Os flebotomíneos foram capturados por aspiração com o uso de Aspiradores de Castro (Castro, 1937) e armazenados separadamente de acordo com a hora e o local onde estavam pousados durante a captura (na barraca ou no técnico que executava o procedimento).



**Figura 7 - Armadilha de Shannon instalada em Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020. Fonte: CEVS/SES/RS, 2020.**



**Figura 8 - Localização da Armadilha de Shannon, Estação de Monitoramento-1 e casos de Leishmaniose Visceral Canina diagnosticados entre 2017 e 2019, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020. Fonte: CEVS/SES/RS**

### **3.2.5 Capturas Manuais**

Complementarmente, foi realizada mensalmente uma captura manual noturna em cada EM com o uso de Aspiradores de Castro e lanternas. Essas capturas foram realizadas por dois técnicos, sendo um responsável pelas capturas nas paredes externas do domicílio e outro pelas capturas no peridomicílio e anexos, as quais foram realizadas com ênfase na parte interna e externa de abrigos de animais, quando disponíveis. Ambas as capturas tiveram duração mínima de 15 minutos.



**Figura 9 - Captura manual peridomiciliar com o uso de Aspirador de Castro, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020. Fonte: CEVS/SES/RS, 2020.**



### **3.2.6 Dados Climáticos**

Os dados de temperatura, umidade relativa e precipitação diárias e mensais foram obtidos da Estação Meteorológica da Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC). Os dados foram registrados com o uso do *software Weather link*, por uma estação meteorológica automática, da marca *Davis Instruments*, modelo *Vantage Pro Plus*, localizada a 29°43'05" de Latitude Sul e 52°25'00" de Longitude Oeste, em uma altitude de 40 m, no Campus da UNISC.

Além disso, foram registrados dados de temperatura, umidade relativa e velocidade do vento *in loco* no início e a cada hora durante o período das capturas em Armadilha de Shannon. Esses dados foram obtidos com auxílio de um termo-higrômetro e um anemômetro portáteis.

Para verificar a associação entre as variáveis climáticas e número de flebotomíneos capturados foi realizado teste de correlação de Pearson. A normalidade dos dados foi verificada através dos testes de Shapiro-Wilk e Kolmogorov-Smirnov. Para os testes, foi considerado o nível de significância de 95% ( $p < 0,05$ ). As análises foram realizadas utilizando o *software* estatístico *GraphPad Prism* versão 9.3.

### **3.3 Processamento e Identificação dos Flebotomíneos**

Os insetos capturados foram mortos por refrigeração, sendo, em seguida, submetidos à triagem em placas de Petri, para separação dos flebotomíneos dos demais insetos capturados. Este procedimento foi realizado com auxílio de um microscópio estereoscópico. Após triados, os flebotomíneos foram acondicionados em tubos contendo álcool 70%, devidamente identificados com os dados da captura, e armazenados em temperatura ambiente.

Nas fêmeas, a cabeça e os dois últimos segmentos abdominais foram seccionados para clarificação e diafanização, para identificação taxonômica, enquanto o restante do corpo foi separado em tubos para criopreservação a -20° C até os procedimentos de diagnóstico molecular. Os machos foram clarificados e diafanizados inteiros. O processo teve início com a imersão em solução de hidróxido de potássio a 10%, por 3 horas, para clarificação as estruturas quitinizadas, seguida de imersão em ácido acético P.A. por cerca de 20 minutos para neutralização do hidróxido de potássio e retirada do excesso de gordura. A seguir, os espécimes foram

lavados por imersão em água Tipo II, por 20 minutos, sendo posteriormente diafanizados por imersão em solução de lactofenol por 24 horas (Vilela et al. 2018).

Após esses procedimentos, os flebotomíneos foram montados em lâmina contendo solução de berlese, e cobertos por lamínula para identificação em microscópio óptico. Os machos foram montados com o corpo em vista lateral, com a cabeça separada e posicionada em vista dorsal. As fêmeas foram montadas com a cabeça e abdômen posicionados em vista ventral. Para identificação das espécies foram consideradas, principalmente, as estruturas da genitália externa e cabeça nos machos e as estruturas internas da genitália e cabeça nas fêmeas. A identificação morfológica da espécie foi feita com base na chave dicotômica e classificação proposta por Galati (2003, 2018). A abreviatura de gêneros e subgêneros foi realizada conforme Marcondes (2007).

### **3.4 Análise da Abundância, Dominância e Diversidade das Espécies**

A avaliação da abundância foi realizada utilizando os testes estatísticos *Index of Species Abundance* (ISA) e *Standardized Index of Species Abundance* (SISA) (Roberts; Hsi 1979). Para comparação dos flebotomíneos capturados nas diferentes Estações de Monitoramento foi usado o *software* DivEs - Diversidade de Espécies DE4, sendo os dados analisados através do Índice de Diversidade de Margalef, Índice de Riqueza Jackknife de 1ª ordem e Índice de dominância de Berger-Parker (Rodrigues, 2022). Para o cálculo dos índices de abundância e dominância, os exemplares de *Brumptomyia* spp. foram agrupados por gênero.

### **3.5 Diagnóstico Molecular de *Leishmania* sp. e Pesquisa de Conteúdo Alimentar**

Os flebotomíneos foram analisados individualmente, segundo Pita-Pereira et al. (2005). As fêmeas foram previamente identificadas taxonomicamente e separadas individualmente em *ependorfs* rotulados de acordo com o local, data e método de captura, espécie, e sexo, sendo posteriormente, enviados ao laboratório para os ensaios moleculares. As fêmeas foram destinadas ao diagnóstico molecular de *Leishmania* sp., sendo as ingurgitadas (Figura 10) também destinadas para a



avaliação do conteúdo alimentar. Machos foram utilizados como controle negativo em todas as etapas do ensaio diagnóstico.



**Figura 10 - Fêmea de flebotomíneo ingurgitada (à esquerda) e fêmea não ingurgitada (à direita), capturadas em Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020. Fonte: CEVS/SES/RS, 2020.**

### **3.5.1 Extração do DNA**

Para obtenção do extrato total, as amostras foram lisadas em tampão de lise (10 mM Tris-HCl pH 9,2 contendo 10 mM de EDTA e 100 µg/mL de proteinase K) e estocadas (- 20° C) até o momento da extração do DNA total. Para a extração de DNA, foi utilizado o kit comercial *Wizard SV Genomic DNA Purification System* (Promega), conforme recomendado pelo fabricante. A extração de DNA foi monitorada pela inclusão de amostras de insetos machos capturados no campo como controle negativo.

### **3.5.2 Reação em Cadeia de Polimerase**

Para pesquisa de DNA de *Leishmania* sp. foi utilizado um ensaio de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) *Hot-start multiplex* utilizando dois pares de *primers* que amplificam simultaneamente na mesma reação, um produto de 120 pares de base referente ao kDNA de *Leishmania* sp. (Passos et al. 1996); e outro de 220 pares de base correspondente ao DNA de flebotomíneo (Lins et al. 2002). Os produtos amplificados foram visualizados por Eletroforese em gel de agarose a 2% corado com Nancy.

### **3.5.3 Hibridização Dot-Blot**

O produto amplificado na PCR também foi analisado por hibridização em fase sólida, com sonda subgênero-específica ou espécie-específica, marcadas com biotina na extremidade 5'. A reação de hibridização foi revelada com solução de quimioluminescência.

### **3.5.4 PCR/Sequenciamento para Pesquisa do Conteúdo Alimentar**

Para pesquisa de conteúdo alimentar nas fêmeas ingurgitadas foram utilizados *primers* que amplificam o gene citocromo b (cyt b) (Peña et al. 2012). Os produtos obtidos para o gene citocromo b (cyt b) foram purificados, utilizando o *kit Wizard SV PCR Clean-up System* (Promega) e sequenciados com os mesmos iniciadores utilizados para a PCR. O sequenciamento foi realizado em sequenciador automático (ABI PRISM® *BigDye™ Terminator Cycle Sequencing*) nas instalações do Instituto Oswaldo Cruz (IOC) (Plataforma Genômica - sequenciamento de DNA, PDTIS-FIOCRUZ) e as sequências obtidas foram alinhadas e comparadas com a base de dados de nucleotídeos NCBI (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast>).

## **3.6 Monitoramento dos Casos Caninos**

Durante o período do estudo, os casos confirmados de LVC notificados pelo município e diagnosticados no LACEN/RS foram monitorados em relação ao número e local de ocorrência, com base nos dados obtidos das fichas de investigação e notificação da SES/RS. Foram georreferenciados os endereços dos cães com domicílio fixo ou os locais de resgate informados nas fichas, no caso de cães errantes resgatados pelo Canil Municipal. Não foram realizadas buscas ativas de casos, nem inquéritos sorológicos amostrais ou censitários para cálculos de prevalência da infecção canina ou controle.

## **3.7 Palestras**

Antes do início das capturas do projeto, foi realizada uma palestra para os Agentes Comunitários de Saúde, Agentes de Combate a Endemias, Técnicos de Enfermagem e Médicos Veterinários da Secretaria Municipal de Saúde (SMS) de

Santa Cruz do Sul. O objetivo foi instruir e alertar para suspeita precoce de casos caninos e humanos. Na fase final do projeto, os resultados obtidos serão utilizados para discussão de estratégias de prevenção e controle e divulgados através de palestras sobre vigilância ambiental da LVA para técnicos da SES/RS e da SMS de Santa Cruz do Sul.

### **3.8 Aspectos Éticos e Legais**

Não foram divulgados dados que permitam a identificação dos proprietários dos cães monitorados. Os dados relacionados aos cães foram obtidos das fichas de investigação de casos caninos suspeitos notificados à Secretaria da Saúde do Rio Grande do Sul. Nenhum cão foi submetido a experimentos para esta pesquisa.

A atividade de acesso ao patrimônio genético foi cadastrada no Sistema Nacional de Acesso ao Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), no cadastro número A3C05BB (ANEXO 1).

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Fauna de Flebotomíneos

Entre janeiro e dezembro de 2020, em Santa Cruz do Sul, foram realizadas 900 horas de captura em armadilhas de isca luminosa, 48 horas de capturas em Armadilha de Shannon e 30 horas de capturas manuais. Neste período, foram capturados um total de 381 flebotomíneos. Destes, 326 (85,56%) espécimes foram capturados em armadilhas de isca luminosa, 54 (14,17%) em Armadilha de Shannon e um exemplar (0,26%) nas capturas manuais (Tabela 2).

Dentre os espécimes capturados em armadilhas luminosas, 159 (48,77%) eram machos e 167 (51,22%) eram fêmeas, sem diferença significativa de abundância entre os sexos. Nas capturas em Armadilha de Shannon, houve predomínio de fêmeas (74,07%). Durante as capturas em Armadilha de Shannon, duas fêmeas foram capturadas pousadas no técnico que realizava o procedimento. O único espécime capturado manualmente foi uma fêmea, capturada nas paredes externas do domicílio da EM-1, próximo a um pequeno depósito de lixo doméstico (Tabela 2).

**Tabela 2 - Distribuição de flebotomíneos capturados de acordo com o método de captura, em Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020**

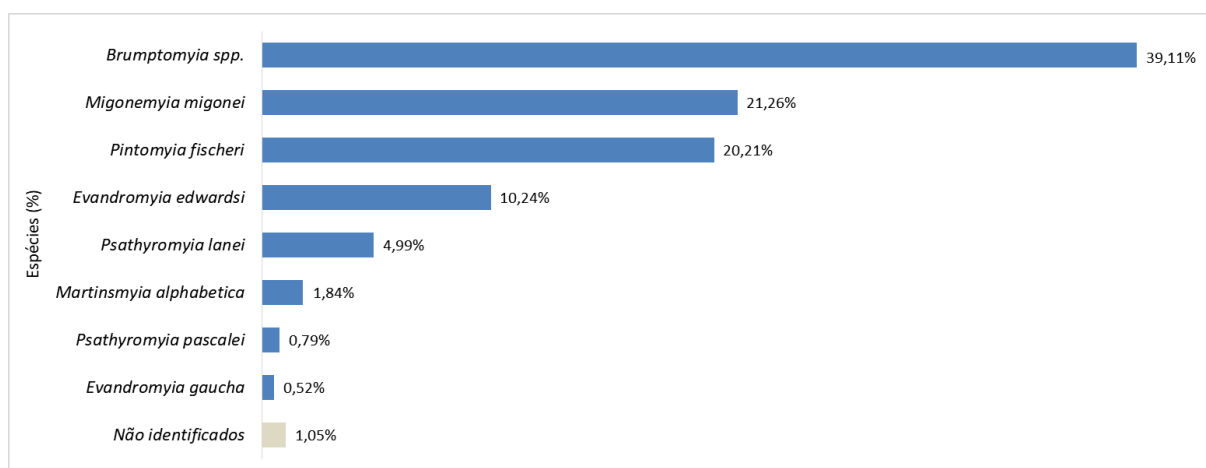
Método de captura	Tempo de captura (h)	Flebotomíneos		
		M (%)	F (%)	Total (%)
Armadilha Luminosa	900	159 (48,77)	167 (51,22)	326 (85,56)
Armadilha de Shannon	48	14 (25,92)	40 (74,07)	54 (14,17)
Captura Manual	30	0	1 (100,00)	1 (0,26)
<b>Total (%)</b>	978	173 (45,40)	208 (54,59)	381 (100,00)

Os flebotomíneos capturados pertencem a três subtribos: *Brumptomyiina* Galati 2003 (Gênero-tipo: *Brumptomyia* França & Parrot 1921), *Lutzomyiina* Abonnenc & Leger, 1976 (Gênero-tipo: *Lutzomyia* França 1924) e *Psychodopygina* Galati 1995 (Gênero-tipo: *Psychodopygus* Mangabeira, 1941). Foram identificados seis gêneros: *Brumptomyia* França & Parrot 1921; *Evandromyia* Mangabeira 1941; *Martinsmyia* Galati 2003; *Migonemyia* Galati, 1995; *Pintomyia* Costa Lima 1932; *Psathyromyia*

Barreto, 1962. Os gêneros proporcionalmente mais numerosos foram: *Brumptomyia* (39,11%), *Mygonemyia* (21,26%) e *Pintomyia* (20,21%).

Foram registradas nove espécies: *Brumptomyia cunhai*, *Brumptomyia nitzulescui*, *Evandromyia edwardsi*, *Evandromyia gaucha*, *Martinsmyia alphabetica*, *Migonemyia migonei*, *Pintomyia fischeri*, *Psathyromyia lanei* e *Psathyromyia pascalei*.

O gênero *Brumptomyia* foi proporcionalmente o mais numeroso na amostra total (39,11%). Neste gênero, a identificação ao nível de espécie de algumas fêmeas não foi possível, devido a semelhança morfológica entre elas e ao fato de que estruturas que possibilitariam a distinção terem sido separadas no processamento para diagnóstico molecular. Sendo assim, para análise de determinados dados essas espécies foram agrupadas pelo gênero. As espécies de importância médica proporcionalmente mais numerosas foram o *Mg. migonei* (21,26%), *Pi. fischeri* (20,21%) e *Ev. edwardsi* (10,24%), respectivamente (Figura 11).



**Figura 11 - Distribuição das espécies de flebotomíneos capturados em Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020.**

Todas as espécies encontradas estavam presentes em amostras capturadas em armadilhas de isca luminosa. As espécies capturadas em maior número com este método foram: *Brumptomyia spp.*, com 144 espécimes (44,17%), *Mg. migonei*, com 67 (20,55%) e *Pi. fischeri*, com 45 (13,80%).

Em Armadilha de Shannon, as espécies capturadas foram: *Brumptomyia spp.*, *Ev. edwardsi*, *Mg. migonei*, *Pi. fischeri* e *Pa. lanei*. Com este método, foi capturada maior quantidade de exemplares da espécie *Pi. fischeri*, com 32 espécimes (59,26%), seguido de *Mg. migonei*, com 14 (25,93%) e *Brumptomyia spp.*, com 5 (9,26%). Em

capturas manuais, o único espécime capturado pertence a espécie *Ev. edwardsi* (Tabela 3).

**Tabela 3 - Distribuição das espécies de flebotomíneos de acordo com o método de captura utilizado, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020**

Espécie	Método de Captura		
	Armadilha Luminosa	Armadilha de Shannon	Captura Manual
<i>Brumptomyia</i> spp.	144 (44,17)	5 (9,26)	0
<i>Evandromyia edwardsi</i>	37 (11,35)	1 (1,85)	1 (100)
<i>Evandromyia gaucha</i>	2 (0,61)	0	0
<i>Martinsmyia alphabetica</i>	7 (2,15)	0	0
<i>Migonemyia migonei</i>	67 (20,55)	14 (25,93)	0
<i>Pintomyia fischeri</i>	45 (13,80)	32 (59,26)	0
<i>Psathyromyia lanei</i>	18 (5,52)	1 (1,85)	0
<i>Psathyromyia pascalei</i>	3 (0,92)	0	0
Não identificados	3 (0,92)	1 (1,85)	0
<b>Total (%)</b>	<b>326 (85,56)</b>	<b>54 (14,17)</b>	<b>1 (0,26)</b>

De acordo com o índice de abundância ISA e SISA, as espécies mais abundantes na amostra total das capturas em armadilhas de isca luminosa foram *Mg. migonei* (SISA=0,842857), seguida de *Pi. fischeri* (SISA=0,728571) e *Brumptomyia* spp. (SISA=0,671429) (Tabela 4).

**Tabela 4 - Índices de abundância ISA e SISA e classificação das espécies mais abundantes capturadas com armadilha de isca luminosa em Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020**

Espécie	ISA	SISA	Classificação
<i>Migonemyia migonei</i>	2,1	0,842857	1
<i>Pintomyia fischeri</i>	2,9	0,728571	2
<i>Brumptomyia</i> spp.	3,3	0,671429	3
<i>Psathyromyia lanei</i>	4,4	0,514286	4
<i>Evandromyia edwardsi</i>	5,0	0,428571	5
<i>Martinsmyia alphabetica</i>	6,6	0,200000	6
<i>Evandromyia gaucha</i>	6,7	0,185714	7
<i>Psathyromyia pascalei</i>	7,2	0,114286	8

Em relação as Estações de Monitoramento, apresentaram maior número de flebotomíneos capturados a EM-3, com 189 espécimes (57,9%), a EM-1, com 73 (22,3%) e a EM-2, com 26 (7,9%). As espécies *Mg. migonei* e *Pi. fischeri* foram as únicas encontradas em todas as Estações de Monitoramento (Tabela 5).

**Tabela 5 - Distribuição das espécies de flebotomíneos capturados em armadilha de isca luminosa, de acordo com a Estação de Monitoramento, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020**

Espécie	EM-1			EM-2			EM-3			EM-4			EM-5		
	M	F	Total	M	F	Total	M	F	Total	M	F	Total	M	F	Total
<i>Brumptomyia cunhai</i>	1	3	4	0	0	0	11	7	18	0	0	0	0	0	0
<i>Brumptomyia nitzulescui</i>	18	6	24	0	0	0	55	25	80	0	0	0	3	1	4
<i>Brumptomyia spp.</i>	0	2	2	0	1	1	0	11	11	0	0	0	0	0	0
<i>Evandromyia edwardsi</i>	0	17	17	0	2	2	5	13	18	0	0	0	0	0	0
<i>Evandromyia gaucha</i>	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Martinsmyia alphabetica</i>	0	0	0	0	0	0	1	5	6	1	0	1	0	0	0
<i>Migonemyia migonei</i>	2	5	7	12	3	15	7	13	20	4	6	10	2	13	15
<i>Pintomyia fischeri</i>	1	6	7	0	2	2	17	14	31	1	2	3	1	1	2
<i>Psathyromyia lanei</i>	7	1	8	4	1	5	3	0	3	1	1	2	0	0	0
<i>Psathyromyia pascallei</i>	1	1	2	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
Não identificado	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0
<b>Total</b>	<b>31</b>	<b>42</b>	<b>73</b>	<b>16</b>	<b>10</b>	<b>26</b>	<b>99</b>	<b>90</b>	<b>189</b>	<b>7</b>	<b>10</b>	<b>17</b>	<b>6</b>	<b>15</b>	<b>21</b>
<b>Total (%)</b>	<b>42,4</b>	<b>57,5</b>	<b>22,3</b>	<b>61,5</b>	<b>38,4</b>	<b>7,9</b>	<b>52,3</b>	<b>47,6</b>	<b>57,9</b>	<b>41,1</b>	<b>58,8</b>	<b>5,2</b>	<b>28,5</b>	<b>71,4</b>	<b>6,4</b>

Em relação aos índices ecológicos, a EM-1 apresentou maior diversidade de espécies, de acordo com índice de Margalef (4,3073) enquanto que a EM-1 e EM-3 apresentaram maior riqueza de espécies, segundo o índice de Jackknife 1(9). Quanto ao índice de dominância de Berger-Parker, a espécie dominante na EM-2, EM-4 e EM-5 foi o *Mg. migonei*, enquanto que na EM-1 e EM-3 foram dominantes espécies do gênero *Brumptomyia* (Tabela 6).

**Tabela 6 - Índices ecológicos de diversidade (Margalef), riqueza (Jackknife 1) e dominância (Berger-Parker) das espécies de flebotomíneos capturadas, de acordo com o local de captura, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020.**

Local de Captura	Diversidade Margalef (I <sub>mg</sub> )	Riqueza Jackknife (J1SMax)*	Riqueza Jackknife (J1SObs)**	Dominância Berger-Parker (d)	Espécie Dominante
EM-1	4,3073	9	9	Pi = 0.4167	<i>Brumptomyia</i> spp.
EM-2	3,5336	9	6	Pi= 0,5769	<i>Mg. migonei</i>
EM-3	3,5178	15	9	Pi= 0,5798	<i>Brumptomyia</i> spp.
EM-4	2,4914	7	4	Pi= 0,625	<i>Mg. migonei</i>
EM-5	1,5126	5,4	3	Pi= 0.7143	<i>Mg. migonei</i>

(\*) Riqueza estimada (\*\*) Riqueza observada

#### 4.2 Distribuição Mensal, Dados Climáticos e Frequência Horária

Em relação a distribuição mensal, em fevereiro houve a maior densidade de flebotomíneos capturados, totalizando 86 (22,57%) espécimes, seguido de março e maio, ambos com 57 (14,96%) espécimes. Nenhum flebotomíneo foi capturado nos meses de julho e setembro, enquanto que em agosto foram capturados somente 5 (1,31%) exemplares (Tabela 7).

**Tabela 7- Distribuição mensal dos flebotomíneos capturados de acordo com o método de captura, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020**

Método de captura	Flebotomíneos (N)											
	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
Armadilha de isca luminosa	43	85	57	15	20	12	0	2	0	36	29	27
Armadilha de Shannon	5	0	0	3	37	2	0	3	0	2	1	1
Captura Manual	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Total (N)</b>	48	86	57	18	57	14	0	5	0	38	30	28
<b>Total (%)</b>	12,60	22,57	14,96	4,72	14,96	3,67	0	1,31	0	9,97	7,87	7,35

As espécies *Mg. migonei* e *Pi. fischeri* foram registradas em todos os meses de capturas positivas para flebotomíneos. O gênero *Brumptomyia* e a espécie *Ev. edwardsi* estiveram presentes em nove dos dez meses em que foram capturados



exemplares. A espécie *Ev. gaucha* foi capturada somente em outubro. As demais espécies foram registradas em ao menos três meses cada (Tabela 8 e Tabela 9).

**Tabela 8 - Distribuição mensal das espécies de flebotomíneos capturados em Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020**

Espécie	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
<i>Brumptomyia cunhai</i>	6	11	3	0	0	0	0	0	0	0	0	2
<i>Brumptomyia nitzulescui</i>	12	23	39	5	12	0	0	0	0	0	1	9
<i>Brumptomyia</i> spp.	1	7	3	1	2	0	0	0	0	1	1	0
<i>Evandromyia edwardsi</i>	3	9	2	0	2	3	0	2	0	3	7	8
<i>Evandromyia gaucha</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
<i>Martinsmyia alphabetica</i>	0	2	0	1	1	1	0	0	0	2	0	0
<i>Migonemyia migonei</i>	13	16	5	6	11	6	0	1	0	5	6	3
<i>Pintomyia fischeri</i>	7	6	3	5	28	1	0	1	0	6	10	4
<i>Psathyromyia lanei</i>	3	2	1	0	2	1	0	0	0	5	0	2
<i>Psathyromyia pascalei</i>	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Não identificados	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	2	0

**Tabela 9 - Distribuição mensal das espécies de flebotomíneos capturados em armadilhas de isca luminosa em Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020**

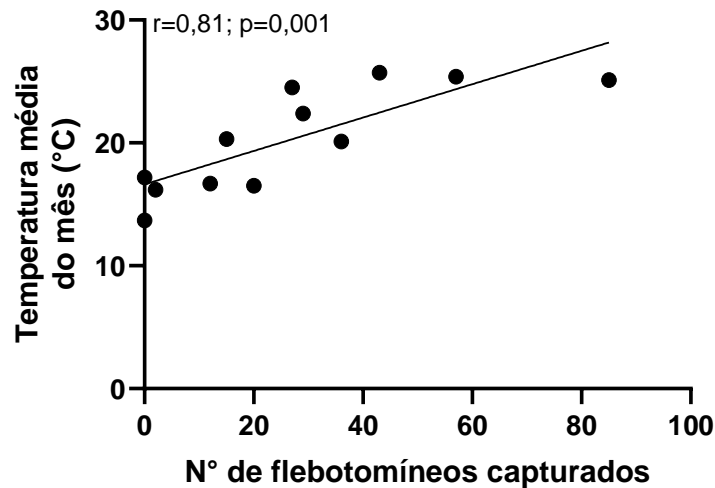
Espécie	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
<i>Brumptomyia cunhai</i>	6	11	3	0	0	0	0	0	0	0	0	2
<i>Brumptomyia nitzulescui</i>	12	23	39	5	8	0	0	0	0	0	1	9
<i>Brumptomyia</i> spp.	1	7	3	1	1	0	0	0	0	1	1	0
<i>Evandromyia edwardsi</i>	3	9	2	0	2	3	0	2	0	3	7	8
<i>Evandromyia gaucha</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
<i>Martinsmyia alphabetica</i>	0	2	0	1	1	1	0	0	0	2	0	0
<i>Migonemyia migonei</i>	10	16	5	5	4	5	0	1	0	4	6	3
<i>Pintomyia fischeri</i>	5	3	3	3	3	1	0	1	0	5	9	3
<i>Psathyromyia lanei</i>	3	2	1	0	2	1	0	0	0	5	0	2
<i>Psathyromyia pascalei</i>	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Não identificados	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0

Em relação as capturas em Armadilha de Shannon, as espécies *Ev. edwardsi* e *Ps. lanei* foram capturadas somente no inverno, em agosto e junho, respectivamente. As espécies *Mg. migonei* e *Pi. fischeri* foram capturadas em seis meses do ano, sendo a última não capturada entre junho e setembro. O pico no número de exemplares capturados destas duas espécies ocorreu no mês de maio (Tabela 10).

**Tabela 10 - Distribuição mensal das espécies de flebotomíneos capturados em Armadilha de Shannon em Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020**

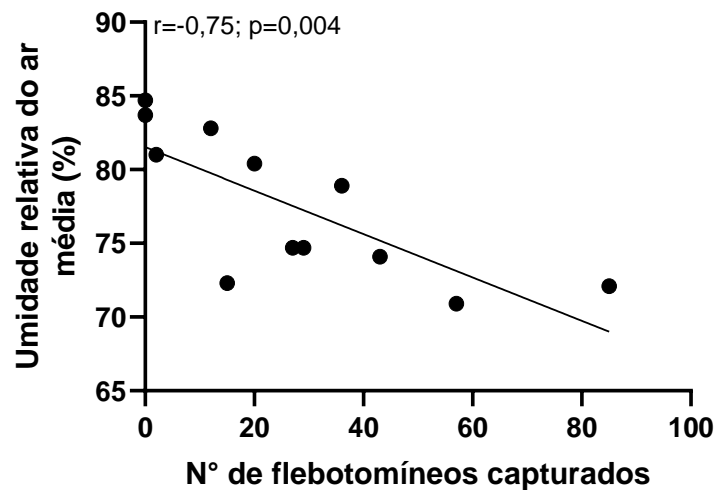
Espécie	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
<i>Brumptomyia nitzulescui</i>	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0
<i>Brumptomyia</i> spp.	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Evandromyia edwardsi</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Migonemyia migonei</i>	3	0	0	1	7	1	0	1	0	1	0	0
<i>Pintomyia fischeri</i>	2	0	0	2	25	0	0	0	0	1	1	1
<i>Psathyromyia lanei</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Não identificados	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0

Durante o período de estudo, a temperatura mínima registrada em dias de captura foi 0,9 °C, em julho, mês que também registrou a menor temperatura média mensal (13,7 °C), seguido por agosto (16,2 °C) e maio (16,5 °C) As maiores temperaturas médias mensais foram registradas nos meses de janeiro (25,7 °C) e março (25,4 °C). A temperatura média mensal apresentou uma associação positiva forte ( $r=0,81$   $p=0,001$ ) com o número de flebotomíneos capturados nas EM (Figura 12).



**Figura 12 - Correlação de Pearson entre o número de flebotomíneos capturados em armadilhas de isca luminosa e a temperatura média do mês da captura, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020.**

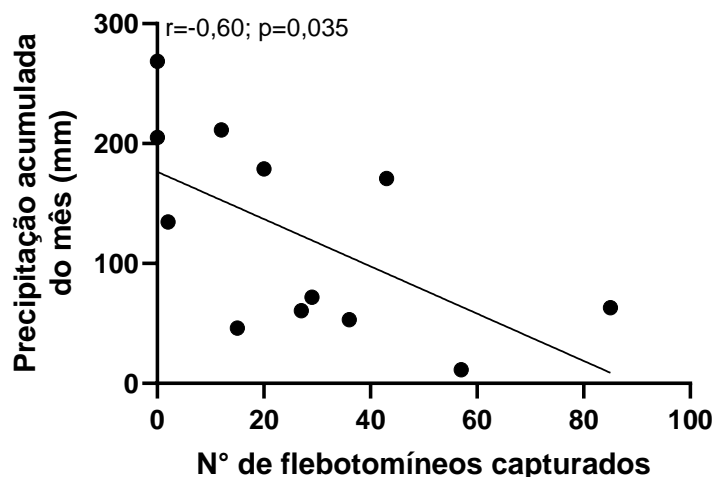
As menores umidades relativas do ar médias mensais foram registradas em março (70,9%), fevereiro (72,1%) e abril (72,3%). Os meses de maior umidade foram julho (84,7%), setembro (83,7%) e junho (82,8%). A umidade relativa do ar média mensal apresentou uma associação negativa forte ( $r=0,75$   $p=0,004$ ) com o número de flebotomíneos capturados nas EM (Figura 13).



**Figura 13 - Correlação de Pearson entre o número de flebotomíneos capturados em armadilhas de isca luminosa e a umidade relativa média do mês da captura, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020.**

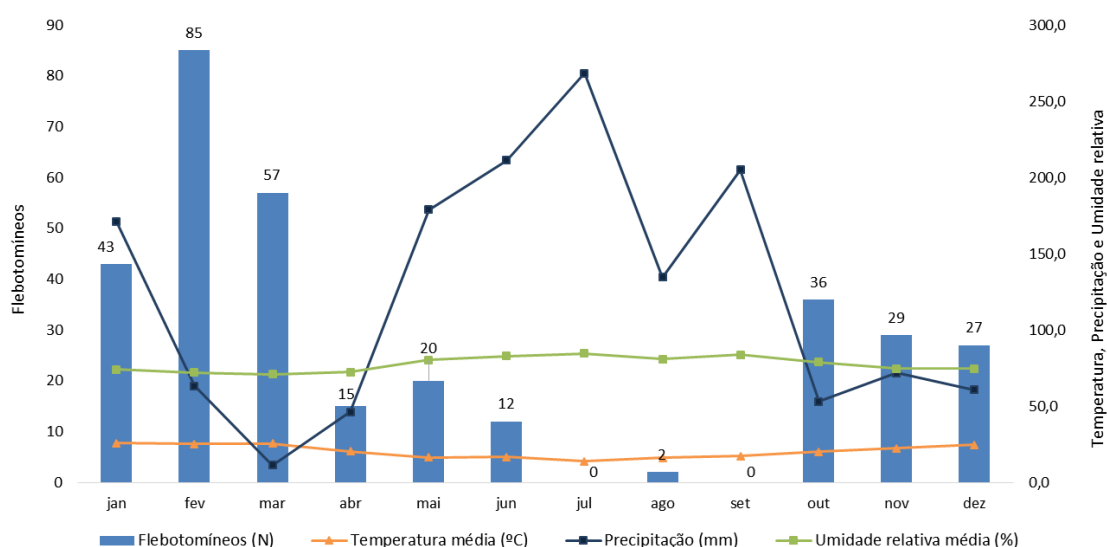
Em relação a precipitação acumulada do mês, as menores precipitações ocorreram nos meses de março (11,4 mm), abril (46,2 mm) e outubro (53,0 mm),

enquanto que as maiores foram registradas em julho (268,5 mm), junho (211,4 mm) e setembro (205,0 mm). A precipitação mensal apresentou uma associação negativa moderada ( $r=0,60$  e  $p=0,035$ ) com número de flebotomíneos capturados nas EM (Figura 14).



**Figura 14 - Correlação de Pearson entre o número de flebotomíneos capturados em armadilhas de isca luminosa e a precipitação acumulada do mês da captura, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020.**

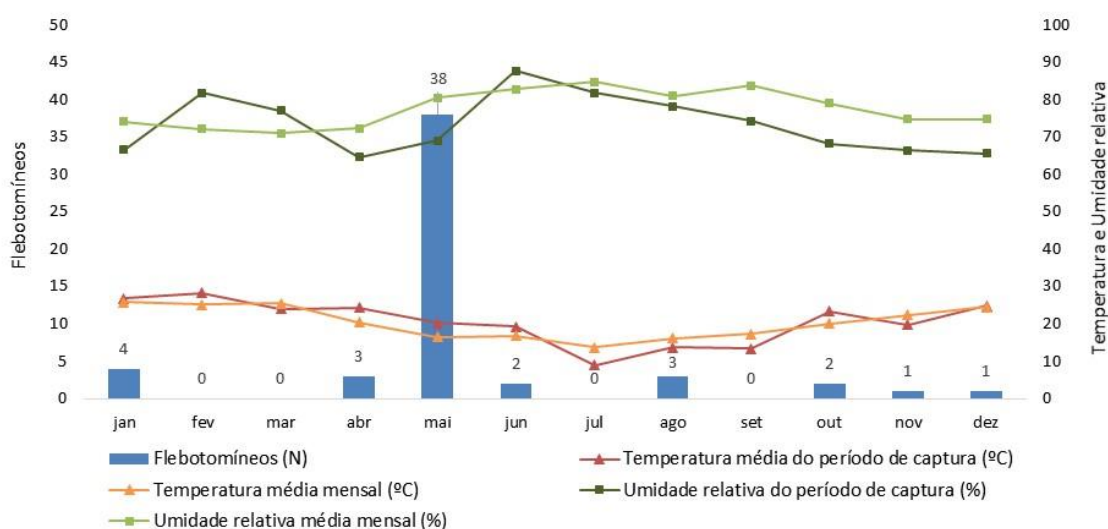
A Figura 15 apresenta a distribuição dos flebotomíneos capturados em armadilhas de isca luminosa e os dados mensais de temperatura média, umidade relativa do ar média e precipitação total.



**Figura 15 - Distribuição mensal dos flebotomíneos capturados em armadilhas de isca luminosa e dados mensais de temperatura média, umidade relativa do ar média e precipitação total, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020**

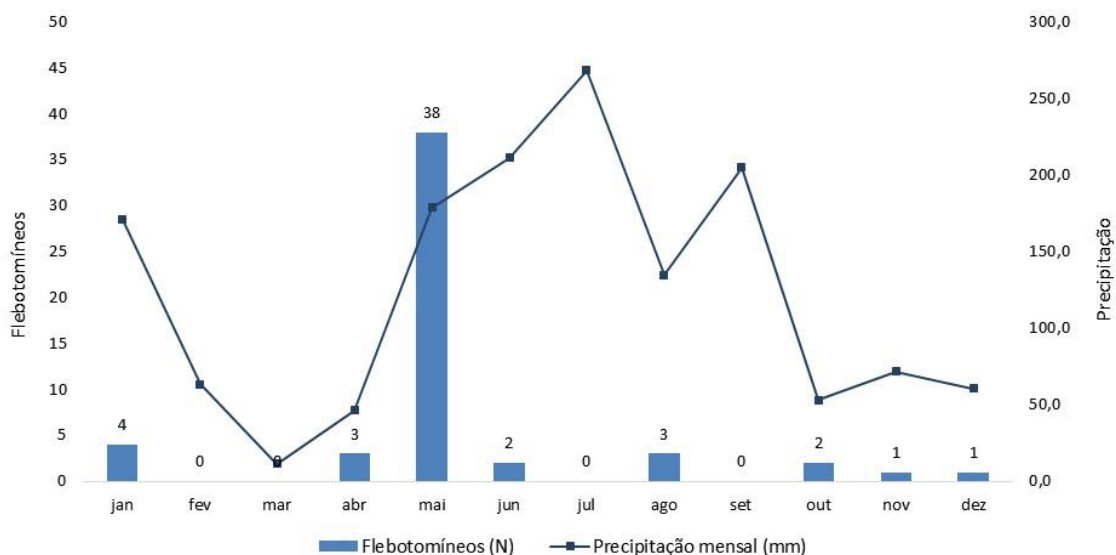
Em relação as capturas em Armadilha de Shannon, o maior número de flebotomíneos foi capturado no mês de maio, quando foram capturados 37 espécimes (68,51%). Nenhum espécime foi capturado nos meses de fevereiro, março, julho e setembro. As menores temperaturas médias aferidas *in loco* durante o horário das capturas foram registradas em julho (9,0 °C), setembro (13,3 °C) e agosto (13,7 °C). Em agosto, foram capturados um exemplar da espécie *Mg. migonei* e um da espécie *Ev. edwardsi* em uma faixa de horário em que a temperatura registrada *in loco* foi de 12,0 °C.

Durante as capturas em Armadilha de Shannon, a menor umidade relativa média, aferida *in loco*, foi de 64,5%, em abril, e a maior 87,6%, em junho. A Figura 16 apresenta as médias mensais de temperatura e umidade relativa do ar e os dados de temperatura e umidade relativa do ar médios aferidos *in loco* durante o período de captura.



**Figura 16 - Distribuição mensal dos flebotomíneos capturados em Armadilha de Shannon, dados de temperatura média e umidade relativa do ar média mensais e dados aferidos *in loco* no período da captura, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020**

Não houve chuvas durante os períodos de captura em Armadilha de Shannon. A Figura 17 apresenta os dados das precipitações totais mensais e a distribuição dos flebotomíneos capturados.



**Figura 17 - Distribuição mensal dos flebotomíneos capturados em Armadilha de Shannon e dados de precipitação total mensal. Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020**

A velocidade do vento aferida *in loco* durante as capturas em Armadilha de Shannon variou de 0 a 1,6m/s. Em capturas em que a velocidade máxima do vento registrada no local foi de até 0,9 m/s, foram capturados 52 flebotomíneos (94,54%). Em capturas em que foram registrados ventos acima de 1 m/s, foram capturados apenas 3 espécimes (5,45%).

Em relação a frequência horária, foram capturados flebotomíneos em todas as faixas de horário entre 18:00 e 22:00 horas, sendo uma proporção maior capturada após as 20:00 horas (79,62%). As espécies *Mg. migonei* e *Pi. fischeri* foram encontradas em todas faixas de horário da captura (Tabela 11).

**Tabela 11 - Distribuição das espécies dos flebotomíneos capturados em Armadilha de Shannon de acordo com o horário de captura, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020**

Espécies	Horário de captura (h)			
	18:00 - 19:00	19:00 - 20:00	20:00 - 21:00	21:00 - 22:00
<i>Brumptomyia</i> spp.	0	0	1	4
<i>Evandromyia edwardsi</i>	0	0	1	0
<i>Migonemyia migonei</i>	1	1	3	9
<i>Pintomyia fischeri</i>	3	5	7	17
<i>Psathyromyia lanei</i>	1	0	0	0
Não identificados	0	0	0	1
<b>Total (%)</b>	5 (9,25)	6 (11,11)	12 (22,22)	31 (57,40)

#### **4.3 Diagnóstico Molecular de *Leishmania* sp. e Pesquisa de Conteúdo Alimentar**

Com exceção das fêmeas do gênero *Brumptomyia*, todas as fêmeas capturadas foram submetidas a pesquisa de DNA de *Leishmania* sp. Foram testadas 150 fêmeas individualmente e nenhuma apresentou resultado positivo.

Para pesquisa de conteúdo alimentar, foram encontradas seis fêmeas ingurgitadas, sendo duas capturadas em armadilhas de isca luminosa e quatro em Armadilha de Shannon. Adicionalmente, duas fêmeas não ingurgitadas, as quais foram capturadas pousadas no técnico que realizava a captura em Armadilha de Shannon, também foram submetidas a pesquisa de conteúdo alimentar.

Entre as oito fêmeas analisadas, foi identificado o DNA da fonte alimentar em somente uma. A fêmea da espécie *Pi. fischeri*, capturada em Armadilha de Shannon, apresentou em seu conteúdo alimentar DNA de aves da espécie *Gallus gallus* (Linnaeus, 1758) (Tabela 12).

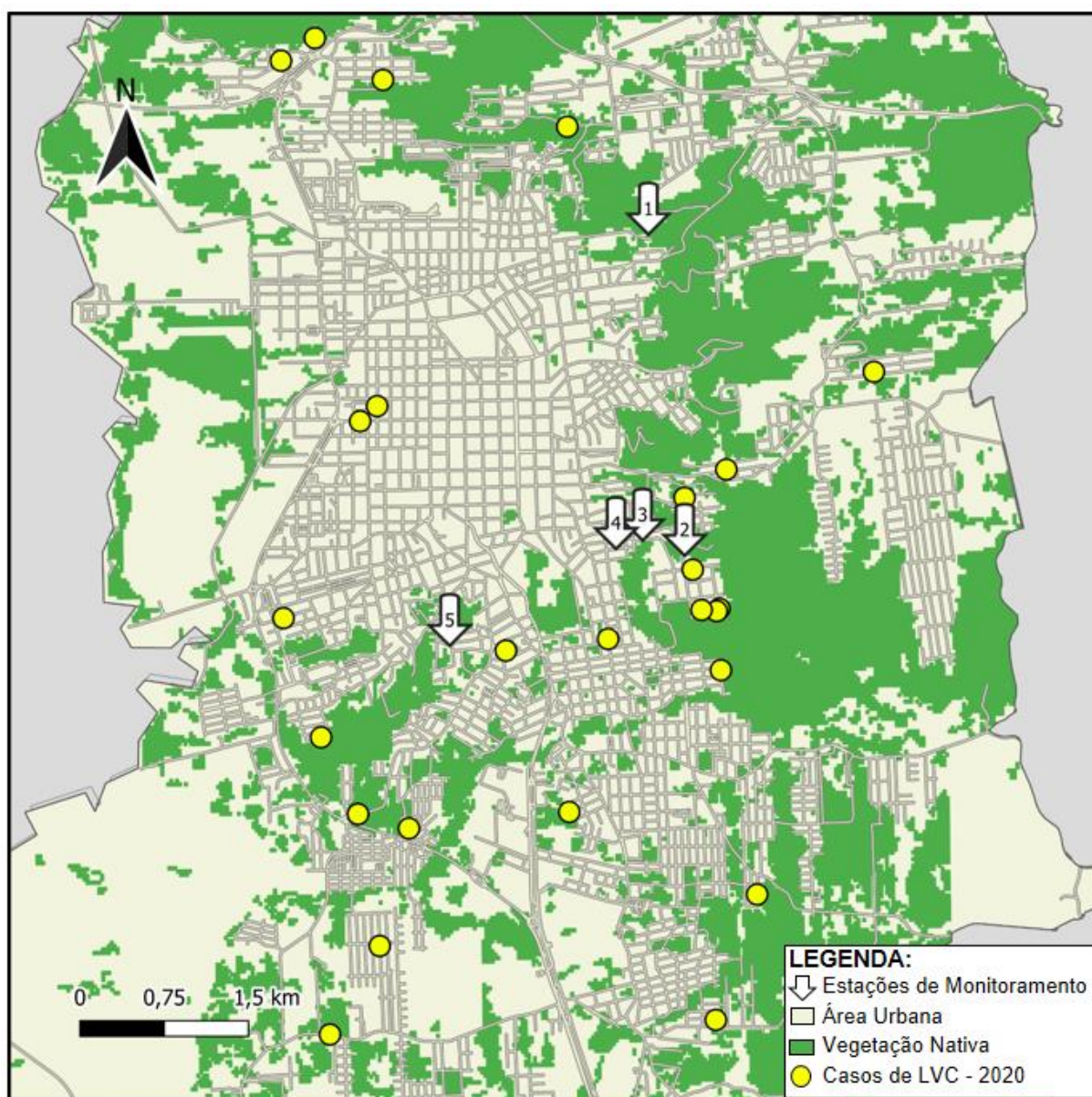
**Tabela 12 - Resultado da pesquisa molecular do conteúdo alimentar de flebotomíneos capturados em Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020.**

<b>Espécie</b>	<b>Local de Captura</b>	<b>Conteúdo alimentar visível</b>	<b>Fonte Alimentar</b>
<i>Ev. edwardsi</i>	EM-1	Sim	Não identificada
<i>Mg. migonei</i>	EM-3	Sim	Não identificada
<i>Mg. migonei</i>	Shannon/ Barraca	Sim	Não identificada
<i>Mg. migonei</i>	Shannon/ Barraca	Sim	Não identificada
<i>Pi. fischeri</i>	Shannon/ Barraca	Sim	<i>Gallus gallus</i>
<i>Pi. fischeri</i>	Shannon/ Barraca	Sim	Não identificada
<i>Pi. fischeri</i>	Shannon/ Humano	Não	Não identificada
<i>Pi. fischeri</i>	Shannon/ Humano	Não	Não identificada

#### **4.4 Monitoramento dos Casos Caninos**

No ano de 2020, foram diagnosticados pelo Laboratório Central de Saúde Pública do Rio Grande do Sul (LACEN/RS), 28 casos de LVC de Santa Cruz do Sul - RS, todos provenientes da área urbana do município. As amostras foram coletadas entre novembro de 2019 e novembro de 2020. O maior número de casos ocorreu no bairro Monte Verde, onde foram registrados cinco casos de LVC em cães domiciliados. Neste bairro, estava localizada a EM-2. Oito cães sororreagentes eram errantes e foram resgatados pelo Canil Municipal (Figura 18).





**Figura 18 - Distribuição dos casos de Leishmaniose Visceral Canina diagnosticados em 2020 e das Estações de Monitoramento, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, 2020. Fonte: CEVS/SES/RS, 2020**

#### 4.5 Palestras

Em 30 de setembro de 2019, foi realizada na SMS de Santa Cruz do Sul, uma palestra para os Agentes Comunitários de Saúde, Agentes de Combate a Endemias, Técnicos de Enfermagem e Médicos Veterinários do município. Esta palestra teve como objetivo apresentar a situação epidemiológica da LVA no estado e no município e sensibilizar para suspeita precoce de casos caninos e humanos. Os temas abordados foram: epidemiologia da LVA no Rio Grande do Sul, epidemiologia da LVC

em Santa Cruz do Sul, características e ecologia de flebotomíneos, papel do cão na transmissão da doença, sinais clínicos da LVA e LVC e vigilância e prevenção da LVA e LVC. O evento teve um carga horária de 4 horas e houve uma boa integração e participação do público (Figura19).



**Figura 19 - Palestra para técnicos da Secretaria Municipal de Saúde de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul – RS, 2019. Fonte: CEVS/SES/RS, 2019**

## 5 DISCUSSÃO

A LVA é uma doença em expansão no estado do Rio Grande do Sul. As áreas de transmissão do estado apresentam diferentes padrões ecológicos e epidemiológicos. Porém, é evidente a carência de estudos sobre vetores e reservatórios na região. O presente trabalho, apresenta dados essenciais para vigilância da LVA no estado e Região Sul do país, descrevendo a ecoepidemiologia deste agravo em um município no qual as espécies vetorais principais não foram encontradas.

Todas as espécies de flebotomíneos encontradas em nosso monitoramento foram capturadas através de armadilhas de isca luminosa. As capturas realizadas em Armadilha de Shannon e as capturas manuais apresentaram menor variedade de espécies em suas amostras. Além disso, somente um espécime foi capturado manualmente em um total de 30 horas de esforço de captura. A escolha do método de amostragem de flebotomíneos depende de fatores como custo, facilidade, espécies procuradas, sexo e finalidade do estudo (Alexander, 2000). Sendo assim, sugerimos que a necessidade do uso de capturas manuais em investigações entomológicas conforme recomendado pelo Ministério da Saúde, deve ser reavaliada.

As espécies de flebotomíneos identificadas nesse estudo, já haviam sido encontradas no Rio Grande do Sul (Dias et al. 1997; Da Silva and Grunewald 1999; Andrade Filho et al. 2007). Entre as espécies já registradas em Santa Cruz do Sul, não foram encontradas em nossa pesquisa as espécies *Pintomyia monticola* e *Nyssomyia neivai*.

Exemplares das espécies *Lu. longipalpis* e *Lu. cruzi* não foram capturados. Estas espécies não haviam sido encontradas em investigações entomológicas anteriores no município bem como em investigações entomológicas e pesquisas realizadas em Porto Alegre (Duarte; Gonçalves 2003; Thiesen; Brito 2003; Souza et al. 2008; Rêgo et al. 2019) e Viamão (Lindholz, 2015). Entretanto, é importante ressaltar que é a primeira vez que uma pesquisa entomológica de 12 meses baseada nos critérios do MS para definição de ausência de *Lu. longipalpis* e *Lu. cruzi* em área previamente delimitada para estudo entomológico é realizada no Rio Grande do Sul. Até 2020, a espécie *Lu. longipalpis* parecia estar restrita a região da fronteira oeste do Rio Grande do Sul (Rêgo et al. 2019). Porém, em 2021, a espécie foi registrada pela primeira vez no município de Santa Maria, na região central do estado (Born et al.,

2021). Localizado a aproximadamente 140 Km de Santa Cruz do Sul, este é o município mais próximo da área do estudo onde a presença da espécie *Lu. longipalpis* foi registrada.

Em nosso estudo, espécimes do gênero *Brumptomyia* foram proporcionalmente mais numerosos na amostra total (39,11%). Este gênero também apresentou maior densidade nas capturas com armadilhas de isca luminosa (44,17%), sendo seguido das espécies *Mg. migonei* (20,53%), *Pi. fischeri* (13,80%) e *Ev. edwardsi* (11,35%). Porém, quando analisamos os índices de abundância ISA e SISA, que abrangem abundância numérica e distribuição espacial (Roberts; Hsi 1979), a espécie mais abundante nas capturas em armadilhas de isca luminosa foi a *Mg. migonei*, seguida de *Pi. fischeri* e do gênero *Brumptomyia*.

Em relação as amostras das capturas com Armadilha de Shannon as espécies proporcionalmente mais numerosas foram *Pi. fischeri* (59,26%), seguida de *Mg. migonei* (25,93%) e *Brumptomyia* spp. (9,26%).

No Brasil, representantes do gênero *Brumptomyia* apresentam baixa ou nenhuma antropofilia e são essencialmente silvestres, não sendo considerados vetores de leishmanioses (Forattini, 1973). Apesar da maior quantidade de exemplares deste gênero na amostra total, estes foram capturados predominantemente na EM-3 (73,15%) e EM-1 (20,13%), localizadas dentro e na borda da mata nativa, respectivamente. A proximidade da mata nativa também justifica a maior riqueza de espécies observada nas amostras oriundas destas Estações de Monitoramento.

A espécie *Ev. edwardsi* foi a única capturada manualmente com aspirador de Castro na parede externa de um domicílio. Também foi encontrada em três das cinco EM, sendo a quarta mais abundante na amostra total (10,24%). Esta espécie já foi encontrada infectada naturalmente por *Leishmania (Viannia) braziliensis*, no município de Cotia, na Grande São Paulo, sendo considerada um possível vetor de LTA (SUCEN, 2005). Entretanto, não há outros estudos que sustentem sua importância epidemiológica.

As espécies *Mg. migonei* e *Pi. fischeri* foram as espécies mais abundantes nas capturas com armadilha de isca luminosa e as espécies de importância médica mais numerosas na amostra total. Essas espécies também foram encontradas em todos os locais de captura. A espécie *Migonemyia migonei* apresentou maior densidade e

dominância na EM-2, EM-4 e EM-5. Já na EM-3, a espécie de importância vetorial mais numerosa e dominante foi *Pi. fischeri*.

A *Migonemyia migonei* é uma espécie que apresenta alta antropofilia, sendo frequentemente encontrada em abrigos de animais próximo a mata (Forattini, 1973). Estudos realizados em focos de LVA já tem discutido o papel vetorial de *Mg. migonei* na ausência de *Lu. longipalpis* (Salomón et al. 2010; Guimarães et al. 2016; Rêgo et al. 2020). Recentemente, a competência vetorial desta espécie para transmissão de *L. Infantum chagasi* para um hospedeiro vertebrado foi demonstrada em laboratório, ratificando a importância de considerar o papel dessa na epidemiologia da LVA (Guimarães et al. 2016; Dos Santos, 2019).

A espécie *Pintomyia fischeri* também apresenta alta antropofilia e pode ser encontrada dentro de habitações humanas (Forattini 1973). Embora a competência de *Pi. fischeri* na transmissão da *L. infantum* ainda não tenha sido demonstrada, formas promastigotas deste parasito já foram isoladas de fêmeas naturalmente infectadas, capturadas em um foco da LVC em Embu da Artes-SP (Galvis-Ovallos et al. 2020). Em um estudo realizado em um foco de LVC na Grande São Paulo, onde a espécie *Lu. longipalpis* não foi encontrada, *Pi. fischeri* foi a espécie predominante (95%) em capturas realizadas em um canil. No mesmo estudo, em condições experimentais, esta espécie também apresentou maior suscetibilidade à infecção por *L. infantum chagasi* e maiores taxas de atração e alimentação em cães quando comparada à *Mg. migonei* (Galvis-Ovallos et al. 2017).

O papel vetorial das espécies *Mg. migonei* e *Pi. fischeri* na epidemiologia da LVA tem sido discutido em pesquisas realizadas na Região Sul do Brasil. Em Viamão, Rio Grande do Sul, em estudo entomológico realizado na área rural, as espécies mais abundantes foram *Ny. Neivai* (37,2%), *Mg. migonei* (34,5%) e *Pi. fischeri* (21,7%). Nesse trabalho, foi detectado DNA de *Leishmania sp.* nas três espécies, sendo estas encontradas em ambiente peridomicliar e intradomiciliar (Lindholz 2015). Em Porto Alegre, DNA de *L. infantum* foi detectado em espécimes de *Pi. fischeri* capturados em uma área de ocorrência de LVC (Rêgo et al. 2019). Posteriormente, no mesmo município, em uma pesquisa entomológica realizada em área com casos humanos de LVA, as espécies mais abundantes foram *Mg. migonei* (38,3%), *Lu. gaminarai* (35,7%) e *Pi. fischeri* (18,2%). Neste estudo, DNA de *L. Infantum* foi detectado nestas três espécies, levantando a hipótese de múltiplos vetores envolvidos no ciclo de transmissão (Rêgo et al., 2020).

No município de Florianópolis, Santa Catarina, em área de transmissão de LVC onde a espécie *Lu. longipalpis* não foi detectada, as fêmeas de flebotomíneos capturadas, predominantemente, foram *Pi. fischeri* (69,0%) e *Mg. migonei* (19,3%). Neste estudo, foi detectado DNA de *Leishmania* sp. em ambas espécies, sendo sugerido que *Mg. migonei* poderia estar atuando como vetor no ciclo de transmissão da LVC (Dias et al. 2013).

Em relação a frequência mensal, 70,15% dos flebotomíneos foram capturados entre janeiro e maio, enquanto que entre junho e setembro, foram capturados apenas 19 espécimes (4,9%). Em julho, mês de menor temperatura e maior precipitação, nenhum espécime foi capturado. Esses resultados corroboram com estudos recentes realizados em Porto Alegre, que relataram um maior número de flebotomíneos de janeiro a maio e redução no número de espécimes capturados entre junho e setembro (Rêgo et al., 2019, 2020). Em Viamão, na região metropolitana de Porto Alegre, em uma pesquisa entomológica realizada entre maio de 2013 e abril de 2014, 98,6% dos flebotomíneos foram capturados entre outubro e março, sendo que em julho, agosto e setembro nenhum espécime foi encontrado (Lindholz, 2015).

A ausência de flebotomíneos em nossas capturas realizadas nos meses de julho e setembro pode ter sido influenciada pelas baixas temperaturas registradas nesses meses. Em regiões subtropicais, como o RS, existe uma associação entre as baixas temperaturas no inverno e uma menor abundância de flebotomíneos (Rêgo et al. 2020). Segundo Forattini (1973), temperaturas abaixo de 12 °C mantem os flebotomíneos adultos em torpor, diminuindo sua atividade. Além do frio, a ausência de flebotomíneos nas capturas de julho e setembro parece estar relacionada as altas precipitações registradas nesse período. Apesar de dependerem da umidade para desenvolvimento e sobrevivência, chuvas fortes podem limitar a atividade de voo de flebotomíneos e, até mesmo, matar formas imaturas e adultos (Koch et al. 2017).

Ainda em relação a frequência mensal, 68,51% dos flebotomíneos capturados em Armadilha de Shannon, foram no mês de maio. Este padrão de aumento no número de exemplares em relação aos outros meses, não foi verificado nas capturas realizadas com armadilhas de isca luminosa no mesmo mês. Também não foi verificado aumento de espécimes na mesma noite na amostra da EM-1, localizada a cerca de 50 m do local de captura com Armadilha de Shannon. O aumento de flebotomíneos na Armadilha de Shannon nesta noite, parece ter sido influenciado por uma grande poda de árvores realizada no quintal de casas localizadas na rua da EM-



1, a qual foi realizada no dia anterior a captura. Essa alteração ambiental pode ter motivado o deslocamento dos flebotomíneos da vegetação peridomiciliar para o interior da mata nativa.

A maioria dos flebotomíneos (94,54%) capturados em Armadilha de Shannon, foram coletados em períodos em que a velocidade máxima das rajadas de vento registradas *in loco* foi de até 0,9 m/s. Segundo Maroli et al (2013), os flebotomíneos são incapazes de voar quando a velocidade do vento é superior a sua velocidade de seu voo, a qual é inferior a 1 m/s, segundo Killick-Kendrick et al (1986).

Em nossas capturas foram observadas associação positiva da temperatura e associações negativas da precipitação total e umidade relativa do ar mensais com o número de espécimes. Essas correlações não foram observadas em um estudo em Porto Alegre-RS, onde apesar de ter sido observada associação positiva entre a temperatura e a abundância de flebotomíneos, não foram observadas associações com a precipitação e umidade (Rêgo et al. 2020).

A sazonalidade das populações de flebotomíneos em uma determinada região é influenciada por fatores climáticos como pluviosidade, umidade relativa do ar e temperatura, além de fatores como vegetação, tipo de solo, relevo e altitude. Para conhecer a distribuição sazonal das espécies é recomendado um estudo mínimo de dois anos (Brasil, 2014, 2017).

As espécies *Mg. migonei* e *Pi. fischeri* foram encontradas em todos os meses em que foram capturados flebotomíneos. Apesar de presentes em todas as estações do ano, o período de capturas de apenas doze meses, não permite determinar a sazonalidade destas espécies na área estudada.

Em nosso estudo, não foi detectado DNA de *Leishmania* sp. em nenhuma das fêmeas analisadas. Apesar da presença de cães diagnosticados com LVC nos domicílios referência para a EM-1, EM-2 e EM-5, estes animais permaneceram usando coleiras repelentes com deltametrina 4% durante todo o período do estudo. Essas coleiras possuem atividade repelente para flebotomíneos, sendo que seu uso sistemático já foi demonstrado resultar na redução da prevalência de casos caninos e da abundância de vetores no peridomicílio (David et al. 2001; Brazuna 2012; Kazimoto 2016; e Silva et al. 2018).

A presença de cães encoleirados também pode ter contribuído para ausência de sangue canino no conteúdo alimentar das fêmeas analisadas. Ademais, foi identificada a presença de sangue de galinha no conteúdo alimentar de uma fêmea

de *Pi. fischeri* capturada em Armadilha de Shannon, sendo que o local de captura estava mais próximo de abrigos de cães do que de abrigos de galinhas. Embora as galinhas sejam refratárias a infecção por *Leishmania* sp., a presença de galinheiros próximos ao domicílio tem sido apontado como possível fator de risco para transmissão de LVA, uma vez que podem atrair e servir de abrigo para flebotomíneos, atrair potenciais reservatórios silvestres e, geralmente, estarem associados a presença de cães para guarda da criação (Alexander et al. 2002)

Ainda sobre a pesquisa de conteúdo alimentar, a baixa amostragem de fêmeas ingurgitadas e a pouca quantidade de sangue presente nestas pode ter influenciado os resultados negativos. É importante ressaltar que não foi identificado DNA humano em nenhuma das fêmeas analisadas, embora duas destas, ambas da espécie *Pi. fischeri*, tenham sido capturadas durante tentativa de hematofagia nos técnicos que realizavam o procedimento de captura. Esse fato, aliado a alta densidade de *Pi. fischeri* nas capturas em Shannon, nos permite inferir sobre a alta antropofilia dessa espécie na área estudada. Na Região Sul, a antropofilia da espécie também já foi relatada em capturas realizadas em Florianópolis e Porto Alegre (Rêgo et al. 2019).

Em relação ao monitoramento canino, foram reportados, em 2020, 28 casos caninos. O número de casos notificados foi semelhante ao registrado no ano anterior (26). Todos os cães diagnosticados residiam ou foram capturados na área urbana do município, próximos a fragmentos de mata nativa, assim como relatado nos anos anteriores. O número de casos oriundos de notificações espontâneas e testes esporádicos de cães do Canil Municipal não reflete a real dimensão da prevalência da infecção e distribuição da LVC no município, uma vez que são testados majoritariamente cães sintomáticos. Para uma análise epidemiológica da LVC no município, seria necessária realização de inquéritos sorológicos, conforme preconizados pelo Ministério da Saúde (Brasil, 2014).

Com casos caninos autóctones sendo diagnosticados de forma contínua, Santa Cruz do Sul segue sendo uma área de risco para LVA em humanos. Nossos resultados sugerem que, no município, a transmissão do agente etiológico da doença entre cães ocorre na ausência dos vetores das espécies *Lu. longipalpis* e *Lu. cruzi*. A constante presença das espécies *Mg. migonei* e *Pi. fischeri* nas capturas peridomiciliares realizadas em nosso trabalho aliada às recentes pesquisas sobre capacidade e competência vetorial dessas espécies, indicam que essas são as principais suspeitas de estarem atuando na transmissão da LVA na área urbana de



Santa Cruz do Sul. Entretanto, ainda são necessários mais estudos sobre a capacidade vetorial dessas espécies para mensurar a importância delas na epidemiologia da LVA no Brasil.

Em fevereiro de 2022, a SES/RS recebeu um formulário do Ministério da Saúde consultando sobre a percepção e considerações sobre as atuais diretrizes descritas no Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral, para o desenvolvimento de um novo manual. Baseado em nossos resultados, incluímos entre as sugestões, a classificação de áreas de transmissão e risco definidas pela presença das espécies *Mg. migonei* e *Pi. fischeri*.

Até a conclusão dessa dissertação, não foi possível agendar uma data para divulgação dos resultados completos para os técnicos da SES/RS e SMS de Santa Cruz do Sul, a qual será agendada no momento oportuno.

## 6 CONCLUSÕES

A transmissão de *Leishmania infantum chagasi* entre cães, na área urbana de Santa Cruz do Sul ocorre na ausência das espécies *Lutzomyia longipalpis* e *Lutzomyia cruzi*, podendo a área de transmissão do município, delimitada para estudo entomológico, ser classificada como ausente para estas espécies.

As espécies *Migonemyia migonei* e *Pintomyia fischeri* são os vetores mais abundantes e frequentes na área de transmissão, estando presentes durante todas as estações do ano e sendo os principais suspeitos na transmissão de *L. infantum chagasi* no município.

É recomendada uma revisão das estratégias de vigilância entomológica da LVA no país e no estado, uma vez que, atualmente, para classificação das áreas quanto a transmissão e vulnerabilidade, bem como para aplicação das medidas de prevenção e controle, é considerada somente a presença e a ecologia das espécies *Lu. longipalpis* e *Lu. cruzi*.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alborzi A, Rasouli M, Shamsizadeh A. Leishmania tropica-isolated patient with visceral leishmaniasis in southern Iran. *Am J Trop Med Hyg.* 2006;74(2):306–7.
- Aldama Caballero A, Guglielmone Pinto C, Rivelli Oddone V, Mendoza de Sanchez G, De Paula N, Almeida F, et al. Leishmaniasis Cutânea Atípica por *L. infantum* (chagasi). *An la Fac Ciencias Médicas.* 2013;46(1):61–8.
- Alexander B. Sampling methods for phlebotomine sandflies. *Med Vet Entomol.* 2000;14(2):109–22.
- Alexander B, Lopes De Carvalho R, Mccallum H, Pereira MH. Role of the Domestic Chicken (*Gallus gallus*) in the Epidemiology of Urban Visceral Leishmaniasis in Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2002;8(12):1480–5.
- 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(5).
- Alvar J, Yactayo S, Bern C. Leishmaniasis and poverty. *Trends Parasitol.* 2006;22(12):552–7.
- Andrade Filho JD, Souza GD, Falcão AL. Description of a new phlebotomine species, *Evandromyia gaucha* sp. nov. (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), from Rio Grande do Sul, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2007;102(6):737–40.
- Asfaram S, Fakhar M, Teshnizi SH. Is the cat an important reservoir host for visceral leishmaniasis? A systematic review with meta-analysis. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis.* 2019;25(June):1–10.

Ashford DA, David JR, Freire M, David R, Sherlock I, Da Conceicao Eulalio M, et al. Studies on control of visceral leishmaniasis: Impact of dog control on canine and human visceral leishmaniasis in Jacobina, bahia, Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 1998;

Ashford RW. Leishmaniasis reservoirs and their significance in control. *Clin Dermatol.* 1996;14(5):523–32.

Ashford RW. The leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses. *Int J Parasitol.* 2000;

Azevedo JSC, Esmeraldino, de Ávila VPF, Witz, Maria Inês Fischer CDB, Tartarotti AL. Leishmaniose visceral canina autóctone no município de São Borja, Rio Grande do Sul, Brasil: relato de caso. *Veterinária em Foco.* 2009;7(1):52–61.

Born, Lucas Corrêa; Salvagni, Émerson; Löbler, Lisiane; Souza, Getúlio Dornelles; Santos, Edmilson; Siqueira NM. Visceral Leishmaniasis Surveillance in Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2017 to 2021: First Report of Human Cases. In: *Anais do 2o Simpósio de Leishmaniose de Região Sul* [Internet]. Curitiba-PR: Instituto Carlos Chagas - Fiocruz Paraná; 2021. Available from: <http://www.icc.fiocruz.br/leishsul>

Born LC, Menegolla IA, Abbad PR da S. Perfil epidemiológico dos casos de Leishmaniose Visceral Canina ocorridos em Santa Cruz do Sul - RS, de 2014 a 2018. In: *Anais do 55 Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical e XXVI Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia* [Internet]. Belo Horizonte - MG: Sociedade Brasileira de Medicina Tropical; 2019. p. 1242–3. Available from: <http://medtrop-parasito2019.parasitologia.org.br/anais/divisao/aprovados>

Brasil. Portaria Interministerial 1.426 de 11 de julho de 2008 [Internet]. Brasília:

Ministério da Saúde. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; 2008.  
Available from:  
[https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2008/pri1426\\_11\\_07\\_2008.html](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2008/pri1426_11_07_2008.html)

Brasil. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Brasília: Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica.; 2014. p. 120 p.

Brasil. Nota Técnica Nº 01/2016/MS/MAPA [Internet]. Autorização para uso de milteforan no tratamento de leishmaniose visceral canina Brasília: Ministério da Saúde. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; 2016. Available from:  
[https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2008/pri1426\\_11\\_07\\_2008.html](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2008/pri1426_11_07_2008.html)

Brasil. Guia de Vigilância em Saúde [Internet]. 1st ed. Vol. 3, Guia de Vigilância em Saúde. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde; 2017a.  
Available from: [www.saude.gov.br/bvs](http://www.saude.gov.br/bvs)

Brasil. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana - 2 ed. atual. [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamentod de Vigilância das Doenças Trasmisíveis; 2017b. p. 189.  
Available from:  
[https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_vigilancia\\_leishmaniose\\_tegumentar.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_leishmaniose_tegumentar.pdf)

Brasil. Portaria de Consolidação No 4, de 28 de setembro de 2017. Brasília-DF: Ministério da Saúde; 2017c.

Brasil. Nota Informativa 277/2018. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. CGDT/DEVIT; 2018.

Brasil. Boletim Epidemiológico Doenças tropicais negligenciadas [Internet]. 2021a.

Available from: [https://www.gov.br/saude/pt-br/media/pdf/2021/marco/3/boletim\\_especial\\_doencas\\_negligenciadas.pdf](https://www.gov.br/saude/pt-br/media/pdf/2021/marco/3/boletim_especial_doencas_negligenciadas.pdf)

Brasil. Boletim Epidemiológico Doenças tropicais negligenciadas Doenças tropicais negligenciadas [Internet]. 2021b. Available from: [https://www.gov.br/saude/pt-br/media/pdf/2021/marco/3/boletim\\_especial\\_doencas\\_negligenciadas.pdf](https://www.gov.br/saude/pt-br/media/pdf/2021/marco/3/boletim_especial_doencas_negligenciadas.pdf)

Brasil. Sistema de Informação de Agravos de Notificação - SINAN [Internet]. 2021c [cited 2021 Jan 5]. Available from: <http://portalsinan.saude.gov.br/dados-epidemiologicos-sinan>

Brazil RP, Brazil BG. Bionomy: Biology of Neotropical Phlebotomine Sand Flies. In: Rangel EF, Shaw JJ, editors. Brazilian Sand Flies. 1st ed. Springer International Publishing AG, part of Springer Nature 2018; 2018. p. 299–318.

Brazuna JCM. Estudos sobre leishmaniose visceral humana e canina no município de Campo Grande, MS, Brasil (Tese). Universidade Federal de Mato Grosso do Sul; 2012.

Burza S, Croft SL, Boelaert M. Leishmaniasis. *Lancet*. 2018;392(10151):951–70.

Calderon-Anyosa R, Galvez-Petzoldt C, Garcia PJ, Carcamo CP. Housing characteristics and leishmaniasis: A systematic review. *Am J Trop Med Hyg*. 2018;99(6):1547–54.

de Carvalho MR, Valença HF, da Silva FJ, de Pita-Pereira D, de Araújo Pereira T, Britto C, et al. Natural *Leishmania infantum* infection in *Migonemyia migonei* (França, 1920) (Diptera:Psychodidae:Phlebotominae) the putative vector of visceral leishmaniasis in Pernambuco State, Brazil. *Acta Trop*. 2010 Oct;116(1):108–10.

- Castro GO. Sobre um processo de cultura de flebótomos. Nota prévia. Sociedade de Biologia Sessão de 8 de outubro.; 1937.
- Chappuis F, Sundar S, Hailu A, Ghalib H, Rijal S, Peeling RW, et al. Visceral leishmaniasis: What are the needs for diagnosis, treatment and control? *Nat Rev Microbiol.* 2007;5(11):873–82.
- Colmenares M, Kar S, Goldsmith-Pestana K, McMahon-Pratt D. Mechanisms of pathogenesis: differences amongst *Leishmania* species. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2002;96:S3–7.
- Costa DL, Costa CHN. Leishmaniose Visceral. In: Conceição-Silva F, Alves CR, editors. *Leishmanioses do continente americano* [Internet]. DGO-Digi. SciELO – Editora FIOCRUZ; 2014. p. 327–53. Available from: <http://www.jstor.org/stable/10.7476/9788575415689.22>
- Coura-Vital W, Araújo VEM de, Reis IA, Amancio FF, Reis AB, Carneiro M. Prognostic Factors and Scoring System for Death from Visceral Leishmaniasis: An Historical Cohort Study in Brazil. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2014 [cited 2021 Jun 30];8(12). Available from: [www.plosntds.org](http://www.plosntds.org)
- Coura-Vital W, Marques MJ, Veloso VM, Roatt BM, de Oliveira Aguiar-Soares RD, Reis LES, et al. Prevalence and factors associated with *Leishmania infantum* infection of dogs from an urban area of Brazil as identified by molecular methods. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011;5(8).
- David JR, Stamm LM, Bezerra HS, Souza RN, Killick-Kendrick R, Lima JWO. Deltamethrin-impregnated Dog Collars Have a Potent Anti-feeding and Insecticidal Effect on *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia migonei*. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2001;96(6):839–47.

- Deane, Leonidas de Mello; Deane MP. Observações preliminares sobre a importancia comparativa do homem, do cão e da raposa (*Lycalopex vetulus*) como reservatórios da *Leishmania donovani* em área endêmica de Calazar, no Ceará. *O Hosp.* 1955;48(1):79–98.
- Dias ES, Falcão AL, Da Silva JE. Notes on the sand fly fauna (Diptera:Psychodidae) in the State of Rio Grande do Sul, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1997;92(3):329–32.
- Dias ES, Michalsky ÉM, do Nascimento JC, Ferreira E de C, Lopes JV, Fortes-Dias CL. Detection of *Leishmania infantum*, the etiological agent of visceral leishmaniasis, in *Lutzomyia neivai*, a putative vector of cutaneous leishmaniasis. *J Vector Ecol.* 2013;38(1):193–6.
- Dorlo TPC, Balasegaram M, Beijnen JH, de vries PJ. Miltefosine: A review of its pharmacology and therapeutic efficacy in the treatment of leishmaniasis. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67(11):2576–97.
- Duarte BR, Gonçalves. Identificação da fauna flebotômica em função de casos autóctones de LTA. *Boletim Epidemiológico - Ano V, nº 21, Novembro 2003* [Internet]. Porto Alegre; 2003. Available from: [http://proweb.procempa.com.br/pmpa/prefpoa/cgvs/usu\\_doc/boletimepidemiologico-cgvs-sms-pmpa-21.pdf](http://proweb.procempa.com.br/pmpa/prefpoa/cgvs/usu_doc/boletimepidemiologico-cgvs-sms-pmpa-21.pdf)
- Dujardin JC, Campino L, Cañavate C, Dedet JP, Gradoni L, Soteriadou K, et al. Spread of vector-borne diseases and neglect of leishmaniasis, Europe. *Emerg Infect Dis.* 2008;14(7):1013–8.
- Dye C. The logic of visceral leishmaniasis control. *Am J Trop Med Hyg.* 1996;55(2):125–30.



e Silva RA, de Andrade AJ, Quint BB, Raffoul GES, Werneck GL, Rangel EF, et al. Effectiveness of dog collars impregnated with 4% deltamethrin in controlling visceral leishmaniasis in *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) populations. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2018;113(5):1–9.

Eab G, Apostila VI. Identificação de Phlebotominae do Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública . Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo , São Disponível em :

Elizabeth F. Rangel, Ralph Lainson, Margarete M. S. Afonso JJS. Eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil. In: Rangel EF, Shaw JJ, editors. *Brazilian Sand Flies*. 1st ed. Springer International Publishing AG, part of Springer Nature 2018; 2018. p. 381–416.

Falcão de Oliveira E, Oshiro ET, Fernandes WS, Murat PG, Medeiros MJ de, Souza AI, et al. Experimental infection and transmission of *Leishmania* by *Lutzomyia cruzi* (Diptera: Psychodidae): Aspects of the ecology of parasite-vector interactions. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(2):1–23.

Figueiredo FB, Vasconcelos TCB de, Madeira M de F, Menezes RC, Maia-Elkhoury ANS, Marcelino AP, et al. Validation of the Dual-path Platform chromatographic immunoassay (DPP® CVL rapid test) for the serodiagnosis of canine visceral leishmaniasis. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2018;113(11):e180260.

Forattini OP. *Entomologia Médica*. São Paulo - SP: Editora Edgard Blücher LTDA; 1973.

Fraga DBM, Solcà MS, Silva VMG, Borja LS, Nascimento EG, Oliveira GGS, et al. Temporal distribution of positive results of tests for detecting *Leishmania* infection in stray dogs of an endemic area of visceral leishmaniasis in the Brazilian tropics: A 13 years survey and association with human disease. *Vet Parasitol* [Internet].

Franssen SU, Durrant C, Stark O, Moser B, Downing T, Imamura H, et al. Global genome diversity of the leishmania donovani complex. *Elife*. 2020;9(CI):1–44.

Galati EAB. Morfologia e Taxonomia: 2.1. Classificação de Phlebotominae, 2.2. Morfologia, Terminologia de Adultos e Identificação dos táxons da América. In: Rangel EF, Laison R, editors. *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro - RJ: Editora Fiocruz; 2003. p. 23–175.

Galati EAB. Morfologia e terminologia de Phlebotominae (Diptera: Psychodidae). Classificação e identificação de táxons das Américas. Programa Pós-Graduação em Saúde Pública Fac Saúde Pública da Univ São Paulo, São Paulo [Internet]. 2018;1:1–139. Available from: <http://www.fsp.usp.br/~egalati/>

Galati EAB, Nunes VLB, Rego Jr. F de A, Oshiro ET, Rodrigues Chang M. Estudo de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em foco de leishmaniose visceral no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Rev Saude Publica*. 1997;31(4):378–90.

Galvis-Ovallos F. Estudo da capacidade vetorial de *Migonemyia migonei* (França) e de *Pintomyia fischeri* (Pinto) (Diptera: Psychodidae) para *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* Cunha & Chagas Fredy. Universidade de São Paulo; 2011.

Galvis-Ovallos F, Da Silva MD, Bispo GBDS, De Oliveira AG, Neto JRG, Malafronte RDS, et al. Canine visceral leishmaniasis in the metropolitan area of São Paulo: *Pintomyia fischeri* as potential vector of *Leishmania infantum*. *Parasite*. 2017;24.

Galvis-Ovallos F, Ueta AE, Marques G de O, Sarmiento AMC, Araujo G, Sandoval C, et al. Detection of *Pintomyia fischeri* (Diptera: Psychodidae) With *Leishmania*

infantum (Trypanosomatida: Trypanosomatidae) Promastigotes in a Focus of Visceral Leishmaniasis in Brazil. J Med Entomol [Internet]. 2020 Oct 13; Available from: <https://doi.org/10.1093/jme/tjaa199>

Gontijo CMF, Melo MN. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. Rev Bras Epidemiol. 2004;7(3):338–49.

Guessous-Idrissi N, Berrag B, Riyad M, Sahibi H, Bichichi M, Rhalem A. Short report: Leishmania tropica: Etiologic agent of a case of canine visceral Leishmaniasis in Northern Morocco. Am J Trop Med Hyg. 1997;

Guimarães VCFV, Pruzinova K, Sadlova J, Volfova V, Myskova J, Filho SPB, et al. Lutzomyia migonei is a permissive vector competent for Leishmania infantum. Parasites and Vectors [Internet]. 2016;9(1):1–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13071-016-1444-2>

IBGE. No Titl [Internet]. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2020. Available from: <http://www.ibge.gov.br>

Jansen, Ana Maria; Dandrea PS. Estudo da prevalência e perfis de infecção por Leishmania sp . em mamíferos silvestres e sinantrópicos na localidade Canto dos Araçás , município de Florianópolis / SC. 2010 [Internet]. 2010;31. Available from: [http://www.pmf.sc.gov.br/arquivos/arquivos/pdf/29\\_12\\_2010\\_11.21.59.e3fa4a5734524ccf230fae0763a37b75.pdf](http://www.pmf.sc.gov.br/arquivos/arquivos/pdf/29_12_2010_11.21.59.e3fa4a5734524ccf230fae0763a37b75.pdf)

Kamhawi S. Phlebotomine sand flies and Leishmania parasites: friends or foes? Trends Parasitol. 2006;22(9):439–45.

Kazimoto TA. Uso de coleiras impregnadas com Deltametrina 4% em cães no controle da Leishmaniose Visceral (Dissertação). Univrsidade Federal Rural do Semiárido; 2016.

Killick-Kendrick R. Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review. *Med Vet Entomol.* 1990;4:1–24.

Killick-Kendrick R, Molyneux DH, Rioux JA, Lanotte G, Leaney AJ. Possible origins of *Leishmania chagasi*. *Ann Trop Med Parasitol.* 1980;74(5):563–5.

Killick-Kendrick R, Wilkes TJ, Bailly M, Bailly I, Righton LA. Preliminary field observations on the flight speed of a phlebotomine sandfly [Internet]. Vol. 80, TRANSACTIONS OF THE ROYAL SOCIETY OF TROPICAL MEDICINE AND HYGIENE. 1986. Available from: <https://academic.oup.com/trstmh/article/80/1/138/1918215>

Koch LK, Kochmann J, Klimpel S, Cunze S. Modeling the climatic suitability of leishmaniasis vector species in Europe. *Sci Rep* [Internet]. 2017;7(1):1–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-13822-1>

Krauspenhar C, Beck C, Sperotto V, Silva AA da, Bastos R, Rodrigues L. Leishmaniose visceral em um canino de Cruz Alta, Rio Grande do Sul, Brasil TT - Visceral leishmaniasis in a dog in Cruz Alta, Rio Grande do Sul, south Brazil. *Ciênc Rural* [Internet]. 2007;37(3):907–10. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-84782007000300052](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782007000300052)

Lainson R, Rangel BF. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil - A review. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2005;100(8):811–27.

Laurenti MD, Rossi CN, Matta VLR da, Tomokane TY, Corbett CEP, Secundino NFC, et al. Asymptomatic dogs are highly competent to transmit *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* to the natural vector. *Vet Parasitol* [Internet]. 2013;196(3–4):296–300. Available from:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.03.017>

Leblois R, Kuhls K, François O, Schönian G, Wirth T. Guns, germs and dogs: On the origin of *Leishmania chagasi*. *Infect Genet Evol.* 2011 Jul 1;11(5):1091–5.

Lindholz CG. Identificação e caracterização das espécies de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae), infectadas por *Leishmania* spp., na localidade Praia das Pombas, Viamão, Rio Grande do Sul, Brasil. [Internet]. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2015. Available from: [http://tede2.pucrs.br/tede2/bitstream/tede/7177/2/DIS\\_CATIELI\\_GOBETTI\\_LINDHOLZ\\_COMPLETO.pdf](http://tede2.pucrs.br/tede2/bitstream/tede/7177/2/DIS_CATIELI_GOBETTI_LINDHOLZ_COMPLETO.pdf)

Lins RMMA, Oliveira SG, Souza NA, De Queiroz RG, Justiniano SCB, Ward RD, et al. Molecular evolution of the cacophony IVS6 region in sandflies. *Insect Mol Biol* [Internet]. 2002;11(2):117–22. Available from: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2583.2002.00315.x>

Lombardi MC, Turchetti AP, Tinoco HP, Pessanha AT, Soave SA, Malta MCC, et al. Diagnosis of *Leishmania infantum* infection by polymerase chain reaction in wild mammals. *Pesqui Vet Bras.* 2014;34(12):1243–6.

Magill AJ, Grogl M, Gasser RA, Sun W, Oster CN. Visceral Infection Caused by *Leishmania tropica* in Veterans of Operation Desert Storm. *N Engl J Med.* 1993;

Mancianti F, Gramiccia M, Gradoni L, Pieri S. Studies on canine leishmaniasis control. 1. Evolution of infection of different clinical forms of canine leishmaniasis following antimonial treatment. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1988;

Marcili A, Sperança MA, da Costa AP, Madeira M de F, Soares HS, Sanches C de OCC, et al. Phylogenetic relationships of *Leishmania* species based on trypanosomatid barcode (SSU rDNA) and gGAPDH genes: Taxonomic revision of

*Leishmania* (L.) *infantum* *chagasi* in South America. *Infect Genet Evol* [Internet]. 2014;25:44–51. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2014.04.001>

Marcondes CB. A proposal of generic and subgeneric abbreviations for Phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) of the world. *Entomol News*. 2007;118(4):351–6.

Maroli M, Feliciangeli MD, Bichaud L, Charrel RN, Gradoni L. Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern. *Medical and Veterinary Entomology*. 2013.

Masucci M, De Majo M, Contarino RB, Borruto G, Vitale F, Pennisi MG. Canine leishmaniasis in the newborn puppy. *Vet Res Commun*. 2003;27(SUPPL. 1):771–4.

Mebrahtu Y, Lawyer P, Githure J, Were JB, Muigai R, Hendricks L, et al. Visceral leishmaniasis unresponsive to Pentostam caused by *Leishmania tropica* in Kenya. *Am J Trop Med Hyg*. 1989;

De Melo Ximenes MDFF, De Souza MDF, Castellón 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;

Miró G, López-Vélez R. Clinical management of canine leishmaniasis versus human leishmaniasis due to *Leishmania infantum*: Putting “One Health” principles into practice. *Vet Parasitol* [Internet]. 2018;254(January):151–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.03.002>

Missawa NA, Veloso MAE, Maciel GBML, Michalsky ÉM, Dias ES. Evidence of transmission of visceral leishmaniasis by *Lutzomyia cruzi* in the municipality of

- jaciara, state of mato grosso, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2011;44(1):76–8.
- Mohebbali M, Hajjaran H, Hamzavi Y, Mobedi I, Arshi S, Zarei Z, et al. Epidemiological aspects of canine visceral leishmaniasis in the Islamic Republic of Iran. *Vet Parasitol.* 2005;
- Mol JPS, Soave SA, Turchetti AP, Pinheiro GRG, Pessanha AT, Malta MCC, et al. Transmissibility of *Leishmania infantum* from maned wolves (*Chrysocyon brachyurus*) and bush dogs (*Speothos venaticus*) to *Lutzomyia longipalpis*. *Vet Parasitol* [Internet]. 2015;212(3–4):86–91. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.08.024>
- Molina R, Amela C, Nieto J, San-Andrés M, González F, Castillo JA, et al. Infectivity of dogs naturally infected with *Leishmania infantum* to colonized *Phlebotomus perniciosus*. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1994;88(4):491–3.
- Moreno J, Alvar J. Canine leishmaniasis: Epidemiological risk and the experimental model. *Trends Parasitol.* 2002;18(9):399–405.
- Moya SL, Giuliani MG, Manteca Acosta M, Salomón OD, Liotta DJ. First description of *Migonemyia migonei* (França) and *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho) (Psychodidae: Phlebotominae) naturally infected by *Leishmania infantum* in Argentina. *Acta Trop.* 2015;
- Nunes CM, Pires MM, da Silva KM, Assis FD, Filho JG, Perri SHV. Relationship between dog culling and incidence of human visceral leishmaniasis in an endemic area. *Vet Parasitol.* 2010;170(1–2):131–3.
- OPAS. Manual de procedimientos para vigilancia y control de las leishmaniasis en las Américas [Internet]. Washington D.C.: Organización Panamericana de la Salud/OMS; 2019. p. 166. Available from:

<https://iris.paho.org/handle/10665.2/50524>

OPAS. Leishmanioses: Informe epidemiológico nas Américas [Internet]. Washington D.C.; 2020. Available from: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/53091>

Otranto D, Dantas-Torres F. The prevention of canine leishmaniasis and its impact on public health. *Trends Parasitol* [Internet]. 2013;29(7):339–45. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2013.05.003>

Pasquali AKS, Baggio RA, Boeger WA, González-Britez N, Guedes DC, Chaves EC, et al. Dispersion of *Leishmania (Leishmania) infantum* in central-southern Brazil: Evidence from an integrative approach. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019;13(8):1–20.

Passos VM, Lasmar EB, Gontijo CM, Fernandes O, Degraive W. Natural infection of a domestic cat (*Felis domesticus*) with *Leishmania (Viannia)* in the metropolitan region of Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1996;91(1):19–20.

Paternina LE, Verbel-Vergara D, Romero-Ricardo L, Pérez-Doria A, Paternina-Gómez M, Martínez L, et al. Evidence for anthropophily in five species of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) from northern Colombia, revealed by molecular identification of bloodmeals. *Acta Trop* [Internet]. 2016;153:86–92. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.10.005>

Peña VH, Fernández GJ, Gómez-Palacio AM, Mejía-Jaramillo AM, Cantillo O, Triana-Chávez O. High-resolution melting (HRM) of the cytochrome B gene: A powerful approach to identify blood-meal sources in Chagas disease vectors. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012;6(2).

Pennisi MG, Persichetti MF. Feline leishmaniosis: Is the cat a small dog? *Vet Parasitol*. 2018;251(December 2017):131–7.



Pimenta PFP, de Freitas VC, Monteiro CC, Pires ACMA, Secundino NFC. Biology of the Leishmania-Sand Fly Interaction. In: Rangel EF, Shaw JJ, editors. Brazilian Sand Flies. Springer, Cham; 2018. p. 319–39.

Pita-Pereira D de, Alves CR, Souza MB, Brazil RP, Bertho ÁL, de Figueiredo Barbosa A, et al. Identification of naturally infected *Lutzomyia intermedia* and *Lutzomyia migonei* with *Leishmania (Viannia) braziliensis* in Rio de Janeiro (Brazil) revealed by a PCR multiplex non-isotopic hybridisation assay. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2005;99(12):905–13.

Pita-Pereira D De, Angelica M, Cardoso B, Roberto C. *Acta Tropica* Detection of natural infection in *Lutzomyia cruzi* and *Lutzomyia forattinii* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) by *Leishmania infantum chagasi* in an endemic area of visceral leishmaniasis in Brazil using a PCR multiplex assay. 2008;107:66–9.

Pita-Pereira D de, Souza GD, Pereira T de A, Zwetsch A, Britto C, Rangel EF. *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, using . *Acta Trop.* 2011;120(3):273–5.

Pita-Pereira D de, Souza GD, Zwetsch A, Alves CR, Britto C, Rangel EE. Short report: First report of *Lutzomyia (nyssomyia) neivai* (diptera: psychodidae: phlebotominae) naturally infected by *Leishmania (viannia) braziliensis* in a periurban area of south Brazil using a multiplex polymerase chain reaction assay. *Am J Trop Med Hyg.* 2009;

Pocai EA, Frozza L, Headley SA, Graça DL. Leishmaniose visceral (Calazar): cinco casos em cães de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural.* 1998;

- Di Primio R. Os flebótomos do litoral do Rio Grande do Sul. Arquivos Riograndenses de Medicina 16:, 1937. 1937. p. 475–82.
- Pugedo H, Barata RA, França-Silva JC, Silva JC, Dias ES. HP: Um modelo aprimorado de armadilha luminosa de sucção para a captura de pequenos insetos. Rev Soc Bras Med Trop. 2005;38(1):70–2.
- Quinnell RJ, Courtenay O. Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis. Parasitology. 2009;136(14):1915–34.
- Rangel EF. Lutzomyia longipalpis ( Diptera , Psychodidae , Phlebotominae ) and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil Lutzomyia longipalpis ( Diptera , Psychodidae , Phlebotominae ) e urbanização da leishmaniose visceral no Brasil. 2008;24(12):2948–52.
- 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;
- Rangel EF, Lainson R, Carvalho BM, Costa SM, Shaw JJ. Sand Fly Vectors of American Cutaneous Leishmaniasis in Brazil. In: Rangel EF, Shaw JJ, editors. Brazilian Sand Flies [Internet]. Springer International Publishing; 2018. p. 341–80. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-75544-1>
- Ready PD. Leishmaniasis emergence and climate change. OIE Rev Sci Tech. 2008;27(2):399–412.
- Ready PD. Biology of Phlebotomine Sand Flies as Vectors of Disease Agents. Annu Rev Entomol. 2013;58(1):227–50.

Ready PD. Epidemiology of visceral leishmaniasis. *Clin Epidemiol.* 2014;6(1):147–54.

Rêgo FD, Souza GD, Dornelles LFP, Andrade Filho JD. Ecology and Molecular Detection of *Leishmania infantum* Nicolle, 1908 (Kinetoplastida: Trypanosomatida) in Wild-Caught Sand Flies (Psychodidae: Phlebotominae) Collected in Porto Alegre, Rio Grande do Sul: A New Focus of Visceral Leishmaniasis in Brazil. *J Med Entomol.* 2019;56(2):519–25.

Rêgo FD, Souza GD, Miranda JB, Peixoto LV, Andrade-Filho JD. Potential Vectors of *Leishmania* Parasites in a Recent Focus of Visceral Leishmaniasis in Neighborhoods of Porto Alegre, State of Rio Grande do Sul, Brazil. *J Med Entomol.* 2020;(X):1–7.

Roberts DR, Hsi BP. An Index of Species Abundance for Use with Mosquito Surveillance Data 12. *Environ Entomol.* 1979;8(6):1007–13.

Rodrigues ACM, Melo ACFL, Júnior ADS, Franco SO, Rondon FCM, Bevilaqua CML. Epidemiologia da leishmaniose visceral no município de Fortaleza, Ceará. *Pesqui Vet Bras.* 2017;37(10):1119–24.

Rodrigues WC. No Title. DivEs - Diversidade de Espécies v.4.18 (AntSoft Systems On Demand) - Guia do Usuário. 2022.

Roque ALR, Jansen AM. Hospedeiros e Reservatórios de *Leishmania* sp. e sua Importância na Manutenção dos Ciclos de Transmissão nos Ambientes Silvestre e Sinantrópico. In: Conceição-Silva F, Alves CR, editors. *Leishmanioses do continente americano* [Internet]. DGO-Digi. SciELO – Editora FIOCRUZ; 2014a. p. 233–57. Available from: <http://www.jstor.org/stable/10.7476/9788575415689.17>

Roque ALR, Jansen AM. Wild and synanthropic reservoirs of *Leishmania* species in

the Americas. *Int J Parasitol Parasites Wildl* [Internet]. 2014b;3(3):251–62. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijppaw.2014.08.004>

Rosypal AC, Troy GC, Zajac AM, Frank G, Lindsay DS. Transplacental Transmission of a North American Isolate of *Leishmania infantum* in an Experimentally Infected Beagle. *J Parasitol* [Internet]. 2005 Aug 1;91(4):970–2. Available from: <https://doi.org/10.1645/GE-483R.1>

Sacks DL, Kenney RT, Neva FA, Kreutzer RD, Jaffe CL, Gupta AK, et al. Indian kala-azar caused by *Leishmania tropica*. *Lancet*. 1995;

Salomón OD, Feliciangeli MD, Quintana MG, Afonso MMDS, Rangel EF. *Lutzomyia longipalpis* urbanisation and control. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2015;110(7):831–46.

Salomón OD, Quintana MG, Bezzi G, Morán ML, Betbeder E, Valdéz D V. *Lutzomyia migonei* as putative vector of visceral leishmaniasis in La Banda, Argentina. *Acta Trop*. 2010;

Salomón OD, Quintana MG, Mastrángelo AV, Fernández MS. Leishmaniasis and climate change-Case study: Argentina. *J Trop Med*. 2012;2012.

San E, Mouriz M, Aparecida E, Galati B, Moreno T, Andrade R, et al. Veterinary Parasitology The finding of *Lutzomyia almerioi* and *Lutzomyia longipalpis* naturally infected by *Leishmania* spp . in a cutaneous and canine visceral leishmaniasis focus in Serra da Bodoquena , Brazil. 2009;160:18–24.

dos Santos E, B. Almeida MA, D. Souza G, Rangel S, B. Lammerhirt C, L. Cruz L, et al. Situação da Leishmaniose Tegumentar Americana no Rio Grande do Sul [Internet]. Vol. 7, *Boletim Epidemiológico*. Porto Alegre; 2005. Available from: <https://www.cevs.rs.gov.br/upload/arquivos/201904/16133145-n-2-junho.pdf>

dos Santos EFM. Bionomia de *Migonemyia migonei* (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) em Condições Experimentais. Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ; 2019.

Dos Santos SO, Arias J, Ribeiro AA, De Paiva Hoffmann M, De Freitas RA, Malacco MAF. Incrimination of *Lutzomyia cruzi* as a vector of American Visceral Leishmaniasis. *Med Vet Entomol*. 1998;12(3):315–7.

Saraiva L, Carvalho GML, Gontijo CMF, Quaresma PF, Lima ACVMR, Falcão AL, et al. Natural infection of *Lutzomyia neivai* and *Lutzomyia sallesi* (Diptera: Psychodidae) by *Leishmania infantum chagasi* in Brazil. *J Med Entomol* [Internet]. 2009 [cited 2021 Mar 19];46(5):1159–63. Available from: <https://academic.oup.com/jme/article/46/5/1159/904695>

Schwabl P, Boité MC, Bussotti G, Jacobs A, Andersson B, Moreira O, et al. Colonization and genetic diversification processes of *Leishmania infantum* in the Americas. *Commun Biol*. 2021;4(1):1–13.

Sevá AP, Ovallos FG, Amaku M, Carrillo E, Moreno J, Galati EAB, et al. Canine-based strategies for prevention and control of visceral leishmaniasis in Brazil. *PLoS One*. 2016;11(7):1–20.

Shannon RC. Methods for collecting and feeding mosquitoes in jungle yellow fever studies. *Am J Trop Med Hyg*. 1939;(19):131–40.

Shaw JJ. Further thoughts on the use of the name *Leishmania* (*Leishmania*) *infantum chagasi* for the aetiological agent of American visceral leishmaniasis. Vol. 101, *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2006.

Sherlock IA, Miranda JC, Sadigursky M, Grimaldi Júnior G. Experimental infection of the opossum *Didelphis Albiventris* (Marsupialia, Didelphidae) with *Leishmania*

donovani. Vol. 83, Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 1988. p. 141.

Sifaki-Pistola D, Ntais P, Christodoulou V, Mazeris A, Antoniou M. The use of spatial analysis to estimate the prevalence of canine leishmaniasis in Greece and Cyprus to predict its future variation and relate it to human disease. *Am J Trop Med Hyg.* 2014;91(2):336–41.

Silva FL, Oliveira RG, Silva TMA, Xavier MN, Nascimento EF, Santos RL. Venereal transmission of canine visceral leishmaniasis. *Vet Parasitol.* 2009;160(1–2):55–9.

Da Silva OS, Grunewald J. Contribution to the Sand Fly Fauna (Diptera: Phlebotominae) of Rio Grande do Sul, Brazil and Leishmania (Viannia) Infections. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1999;

Silva RA, Santos FKM, Sousa LC de, Rangel EF, Bevilaqua CML. Ecology of *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia migonei* in an endemic area for visceral leishmaniasis. *Rev Bras Parasitol Veterinária.* 2014;23(3):320–7.

Singh S, Sharma U, Mishra J. Post-kala-azar dermal leishmaniasis: Recent developments. *Int J Dermatol.* 2011;50(9):1099–108.

Solano-Gallego L, Koutinas A, Miró G, Cardoso L, Pennisi MG, Ferrer L, et al. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniasis. *Vet Parasitol.* 2009;165(1–2):1–18.

Souza GD, Gonçalves BRD, Flores C, Rangel S, Santos E dos, Vilela, Maurício Azevedo A, et al. Monitoramento entomológico dos flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) do município de Porto Alegre,RS. *Boletim Epidemiológico - Ano X, nº 39, Novembro 2008 [Internet].* Porto Alegre; 2008. Available from: [http://lproweb.procempa.com.br/pmpa/prefpoa/sms/usu\\_doc/boletim\\_epidem\\_39.pdf](http://lproweb.procempa.com.br/pmpa/prefpoa/sms/usu_doc/boletim_epidem_39.pdf)

- Souza GD, dos Santos E, Filho JDA. The first report of the main vector of visceral leishmaniasis in America, *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009;104(8):1181–2.
- Souza MB de, Marzochi MC de A, Carvalho RW de, Ribeiro PC, Pontes C dos S, Caetano JM, et al. Ausência da *Lutzomyia longipalpis* em algumas áreas de ocorrência de leishmaniose visceral no Município do Rio de Janeiro. *Cad Saude Publica*. 2003;19(6):1881–5.
- De Souza NA, Brazil RP, Araki AS. The current status of the *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) species complex. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2017;112(3):161–74.
- Steindel M, Menin Á, Evangelista T, Stoco PH, Marlow MA, Fleith RC, et al. Outbreak of autochthonous canine visceral leishmaniasis in Santa Catarina, Brazil. *Pesqui Vet Bras*. 2013;33(4):490–6.
- SUCEN. Encontro de *Lutzomyia edwardsi* infectada na região da Grande de São Paulo [Internet]. São Paulo - SP; 2005. Available from: [www.fsp.usp.br/rsp](http://www.fsp.usp.br/rsp)
- Sul SC do. Plano Municipal de Saúde 2018 - 2021 [Internet]. Santa Cruz do Sul: Prefeitura Municipal de Santa Cruz do Sul; 2018. Available from: [www.santacruz.rs.gov.br](http://www.santacruz.rs.gov.br)
- Thakur L, Singh KK, Shanker V, Negi A, Jain A, Matlashewski G, et al. Atypical leishmaniasis: A global perspective with emphasis on the Indian subcontinent. *PLoS Negl Trop Dis*. 2018;12(9):1–17.
- Thiesen S V., Brito MR V. Leishmaniose Tegumentar Americana em Porto Alegre. *Boletim Epidemiológico*. n. 21, ano V, nov. 2003. [Internet]. Porto Alegre; 2003.

Available

from:

[http://lproweb.procempa.com.br/pmpa/prefpoa/cgvs/usu\\_doc/boletimepidemiologico-cgvs-sms-pmpa-21.pdf](http://lproweb.procempa.com.br/pmpa/prefpoa/cgvs/usu_doc/boletimepidemiologico-cgvs-sms-pmpa-21.pdf)

Travi BL, Cordeiro-da-Silva A, Dantas-Torres F, Miró G. Canine visceral leishmaniasis: Diagnosis and management of the reservoir living among us. *PLoS Negl Trop Dis*. 2018;12(1):1–13.

Trench P, Ritt FJ, Gewehr AG, De Souza Leandro TA, Chiyo A. First Report of Autochthonous Visceral Leishmaniosis in Humans in foz Do Iguaçu, Paraná State, Southern Brazil. *Ann Clin Cytol Pathol*. 2016;2(6):1041.

Uribe S. The Status of the *Lutzomyia longipalpis* Species Complex and Possible Implications for *Leishmania* Transmission. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1999;94(6):729–34.

Velez R, Gállego M. Commercially approved vaccines for canine leishmaniosis: a review of available data on their safety and efficacy. *Trop Med Int Heal*. 2020;25(5):540–57.

Vilela ML, Zwetsch A, Silva J dos S. Methods for Capturing, Processing and Preserving Phlebotominae. In: Rangel EF, Shaw JJ, editors. *Brazilian Sand Flies*. Springer International Publishing; 2018. p. 443–66.

Werneck GL. Forum: Geographic spread and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. Introduction. *Cad Saude Publica*. 2008;24(12):2937–40.

Werneck GL. Visceral leishmaniasis in Brazil: Rationale and concerns related to reservoir control. *Rev Saude Publica*. 2014;48(5):851–6.



## ANEXOS

# ANEXO 1 - Nota Informativa Nº 227/2018 – CGDT/DEVIT/SVS/MS

SEI/MS - 6542557 - Nota Informativa

02/01/2019 17:04



MINISTÉRIO DA SAÚDE  
COORDENAÇÃO-GERAL DE DOENÇAS TRANSMISSÍVEIS - CGDT  
SRTV 702, Via W5 Norte - Bairro Asa Norte, Brasília/DF, CEP 70723-040  
Site - saude.gov.br

## NOTA INFORMATIVA Nº 227/2018-CGDT/DEVIT/SVS/MS

Informa sobre os critérios para definição de ausência de *Lutzomyia longipalpis* e *Lutzomyia cruzi*, vetores da leishmaniose visceral, em área previamente delimitada para estudo entomológico

### I – ANTECEDENTES

Existem diversos aspectos que conferem a competência vetorial dos flebotomíneos à leishmaniose visceral (LV). Dentre os critérios de competência vetorial essenciais descritos e aceitos pela Organização Mundial de Saúde, aspectos definidos pela biologia e ecologia dos flebotomíneos, como a sua distribuição e presença em alta densidade nos locais onde há transmissão de LV, predileção alimentar por reservatórios naturais de *Leishmania infantum*, grau de antropofilia da espécie e encontro de exemplares da espécie infectados naturalmente podem ser indicativos de que esta espécie esteja participando da transmissão da doença (Deane, 1956; Lainson et al., 1977; Lainson; Rangel, 2005; WHO, 2010).

Com base nestes critérios, o principal vetor de LV no Brasil é *Lutzomyia longipalpis*, sendo *Lu. cruzi* considerado vetor secundário (Deane, 1956; Falcão de Oliveira et al., 2017). Entretanto, desde 2003, vem sendo observada a ocorrência de casos autóctones de leishmaniose visceral canina e/ou humana em municípios com ausência de *Lu. longipalpis* e/ou *Lu. cruzi*, o que sugere a participação de outras espécies na transmissão desta doença. O quadro 1 traz informações sobre os oito municípios com transmissão de LV canina e/ou humana e ausência de vetores, no período de 2003 a 2017, citando as principais espécies de flebotomíneos encontradas, bem como quais espécies foram encontradas naturalmente infectadas por *L. infantum*. Essas informações foram obtidas a partir de relatórios de atividades dos laboratórios de referência em leishmanioses da Fundação Oswaldo Cruz, bem como por comunicação direta com pesquisadores da Universidade de São Paulo.

*Quadro 1. Informações sobre tipo de transmissão de LV em municípios sem Lu. longipalpis, principais espécies flebotomínicas encontradas e infecção natural.*

Município	Transmissão	Principais espécies encontradas	Infecção natural
Guarujá/SP	Canina e humana	<i>Nyssomyia intermedia</i>	Não
		<i>Psathyromyia pascalei</i>	Não

[https://sei.saude.gov.br/sei/controlador.php?acao=documento\\_j...\\_a5cb00e1e21331d75b4ca86dc4277c08c6c5895c8dca9be0ce006ace9bed](https://sei.saude.gov.br/sei/controlador.php?acao=documento_j..._a5cb00e1e21331d75b4ca86dc4277c08c6c5895c8dca9be0ce006ace9bed)

Página 1 de 6

		<i>Migonemyia migonei</i>	Não
Embu das Artes/SP	Canina	<i>Pintomyia fischeri</i> <i>Migonemyia migonei</i>	Sim
Cotia/SP	Canina	<i>Pintomyia fischeri</i> <i>Migonemyia migonei</i>	Sim
São Vicente Férrer/PE	Canina e humana	<i>Psychodopygus complexus</i>	Não
		<i>Migonemyia migonei</i>	Sim
Florianópolis/SC	Canina e humana	<i>Pintomyia fischeri</i>	Não
		<i>Migonemyia migonei</i>	Não
		<i>Nyssomyia neivai</i>	Sim
Cacoal/RO	Canina	<i>Nyssomyia antunesi</i>	Não
		<i>Nyssomyia whitmani</i>	Não
		<i>Psychodopygus davisi</i>	Não
		<i>Migonemyia migonei</i>	Não
Porto Alegre	Canina e humana	<i>Pintomyia fischeri</i>	Sim
		<i>Migonemyia migonei,</i>	Sim
		<i>Nyssomyia neivai,</i>	Não
		<i>Psathyromyia lanei,</i>	Não
		<i>Lutzomyia gaminarai</i>	Sim
Macapá/AP	Canina	<i>Nyssomyia umbratilis,</i>	Não
		<i>Bicromomyia flaviscullata,</i>	Não
		<i>Trichophoromyia ubiquitalis,</i>	Não
		<i>Psychodopygus davisi</i>	Não
		<i>Psychodopygus amazonenses</i>	Não
		<i>Evandromyia infraespinosa</i>	Não



O aumento do número de municípios com transmissão de LV e sem a presença dos vetores ao longo dos anos indica a necessidade de investigação da permissividade de outras espécies a infecção e transmissão de *L. infantum*. Dessa forma, foi gerada a demanda pelo GT-Leishmanioses do Ministério da Saúde objetivando a discussão sobre quais critérios devem ser utilizados para definir a ausência de *Lu. longipalpis* e/ou *Lu. cruzi* em área previamente delimitada para estudo entomológico. Da mesma forma, na ausência dos vetores, é fundamental a análise de outras espécies flebotomínicas quanto aos critérios de competência vetorial para a transmissão de *Leishmania infantum*.

Considerando que as ações voltadas para o controle de vetores descritas no Manual de Vigilância e Controle da LV do Ministério da Saúde são indicadas em situações específicas de presença de *Lu. longipalpis* e/ou *Lu. cruzi*, é fundamental a discussão de quais medidas de prevenção e controle devem ser indicadas nas áreas sem estas espécies.

## II. CONSIDERAÇÕES GERAIS:

Foram levantados e discutidos os pontos abaixo, considerados extremamente relevantes para o entendimento da dinâmica de transmissão de LV nas áreas sem *Lu. longipalpis*:

### *a. Necessidade de fortalecimento da vigilância entomológica nos Estados e municípios com transmissão recente e que ainda não tem a fauna flebotomínea conhecida.*

Este fortalecimento consiste principalmente na realização de metodologias de captura de flebotomíneos continuadas e mais diversificadas. Nesse sentido, para a confirmação da ausência de *Lu. longipalpis* e/ou *Lu. cruzi*, é necessária a realização de capturas sistemáticas em um período inicial de 3 meses, utilizando metodologia preconizada pelo manual de Vigilância e Controle da LV (Metodologia A\*). Caso não seja encontrado *Lu. longipalpis* ou *Lu. cruzi*, é sugerido que o período de coleta seja estendido por mais nove meses e que seja incorporada a utilização de armadilha Shannon por uma noite no mínimo por mês de coleta (Metodologia B\*\*). A ampliação das metodologias visa ao aumento da sensibilidade na captura de flebotomíneos.

Ainda no contexto de fortalecimento da vigilância entomológica, é fundamental a realização de monitoramento entomológico, principalmente em áreas com transmissão em que esta atividade nunca foi realizada, para definição de curva de sazonalidade das espécies de flebotomíneos ocorrentes.

### *b. Avaliação do tempo de disseminação da doença tanto em cães como em humanos no município*

*Lu. longipalpis* é o principal vetor da LV no Brasil, pois cumpre todos os critérios de competência vetorial preconizados pela Organização Mundial de Saúde. O alto grau de antropofilia e a preferência alimentar eclética desses flebotomíneos associado com a sua presença e prevalência em áreas com casos autóctones de LV, seguida da infecção experimental e transmissão da *L. infantum* para hamsters em cinco ocasiões, comprova essa afirmação. Quando avaliadas a taxa de infecção, a sobrevivência em dias após o repasto sanguíneo e a quantidade de formas flageladas no tubo digestivo anterior, esta espécie demonstra uma capacidade vetorial superior ao vetor secundário, *Lu. cruzi*. Nesse sentido, sabendo que a virulência de um agente etiológico está relacionada ao grau de patogenicidade associado à carga parasitária inoculada pelo vetor, entende-se que a manifestação clínica é mais aparente em áreas que o *Lu. longipalpis* está presente. Nesse sentido, sugere-se que, na presença desse vetor, o grau de disseminação da doença nos cães e nos humanos é maior. Por esse motivo é importante fazer a avaliação do tempo de disseminação da doença tanto em cães como em humanos, para comprovação

desta hipótese.

*c. Necessidade de avaliação das taxas de infecção natural das espécies coletadas*

A avaliação da taxa de infecção natural a partir de protocolos de biologia molecular ainda não faz parte do escopo de atividades de vigilância entomológica no contexto do SUS. Isso devido à complexidade e necessidade de pessoal treinado para a sua realização.

Entretanto, a determinação da taxa de infecção natural a partir da dissecação de flebotomíneos e visualização de *L. infantum* na hipofaringe dos insetos pode ser realizada e deve ser fortalecida nos estados.

*d. Definição de critérios de competência e capacidade vetorial*

*d.1. Capacidade vetorial*

Dentre os critérios de capacidade adotados, aspectos definidos pela biologia e ecologia dos flebotomíneos, como a sua distribuição e presença em alta densidade nos locais onde há a transmissão de LV, predileção alimentar por reservatórios naturais de *L. infantum* e grau de antropofilia da espécie podem ser indicativos de que esta espécie esteja participando da transmissão da doença (WHO, 2010).

*d.2. Competência vetorial*

Existem diversos aspectos que caracterizam a susceptibilidade do inseto ao protozoário, possibilitando o desenvolvimento do parasito e sua transmissão. Dentre os aspectos intrínsecos ao vetor podemos destacar cinco pontos principais: a capacidade dos parasitos de resistirem à atividade das enzimas digestivas; de escaparem da matriz peritrófica que reveste o bolo alimentar; de se aderirem ao epitélio intestinal no momento da excreção do resto alimentar; de completarem o ciclo de vida dentro do inseto vetor, culminando no desenvolvimento e diferenciação de formas infectantes e inocularem os parasitos infectantes no hospedeiro vertebrado. Em nível de serviço de saúde, a finalização do ciclo do parasito no vetor pode ser confirmada pela detecção da taxa de infecção natural, a partir da dissecação do flebotomíneos e visualização de formas promastigotas nas suas hipofaringes.

Para sistematizar todas essas informações, elaborou-se um algoritmo para definição das atividades que devem ser desencadeadas objetivando a comprovação de ausência de *Lu. longipalpis* e *Lu. cruzi* na área trabalhada (anexo 1).

### III. CONTATO

Para quaisquer dúvidas, entrar em contato com o com a Coordenação-Geral de Doenças Transmissíveis, (61) 3315-2209, SRTV 702, Via W 5 Norte - Brasília, DF, 70723-040, PO700. Email: [leishmanioses@saude.gov.br](mailto:leishmanioses@saude.gov.br).

### IV. REFERÊNCIAS

Deane, M. P.; Deane, L. M. Infecção natural do *Phlebotomus longipalpis* por leptomonas, provavelmente de *Leishmania donovani*, em foco de calazar, Ceará. Hospital (Rio de Janeiro), 45: 697-702, 1954a.

Falcão de Oliveira E, Oshiro ET, Fernandes WS, Murat PG, Medeiros MJ de, Souza AI, Oliveira AG



de, Galati EAB (2017). Experimental infection and transmission of Leishmania by *Lutzomyia cruzi*(Diptera: Psychodidae): Aspects of the ecology of parasite-vector interaction. Plos Negl. Trop. Dis. 11(2):e0005401. doi: 10.1371/journal.pntd.0005401.

Lainson, R.; Ward, R. D.; Shaw, J. J. Experimental transmission of *Leishmania chagasi*, causative agent of neotropical visceral leishmaniasis, by the sand fly *Lutzomyia longipalpis*. Nature (London), v. 266, p. 628 a 630, 1977.

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, n. 8, p. 811-827, 2005.

WHO - World Health Organization. Controle das Leishmanioses. Relatório de uma reunião do Comitê de Peritos sobre o Controle das leishmanioses, Genebra, 22-26 de março 2010.

Atenciosamente,

Renato Vieira Alves  
Coordenador  
Coordenação-Geral de Doenças Transmissíveis

De acordo,

André Luiz de Abreu  
Diretor  
Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis



Documento assinado eletronicamente por **Renato Vieira Alves, Coordenador(a)-Geral de Doenças Transmissíveis**, em 16/11/2018, às 14:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#); e art. 8º, da [Portaria nº 900 de 31 de Março de 2017](#).



Documento assinado eletronicamente por **André Luiz de Abreu, Diretor(a) do Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis**, em 16/11/2018, às 16:18, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#); e art. 8º, da [Portaria nº 900 de 31 de Março de 2017](#).

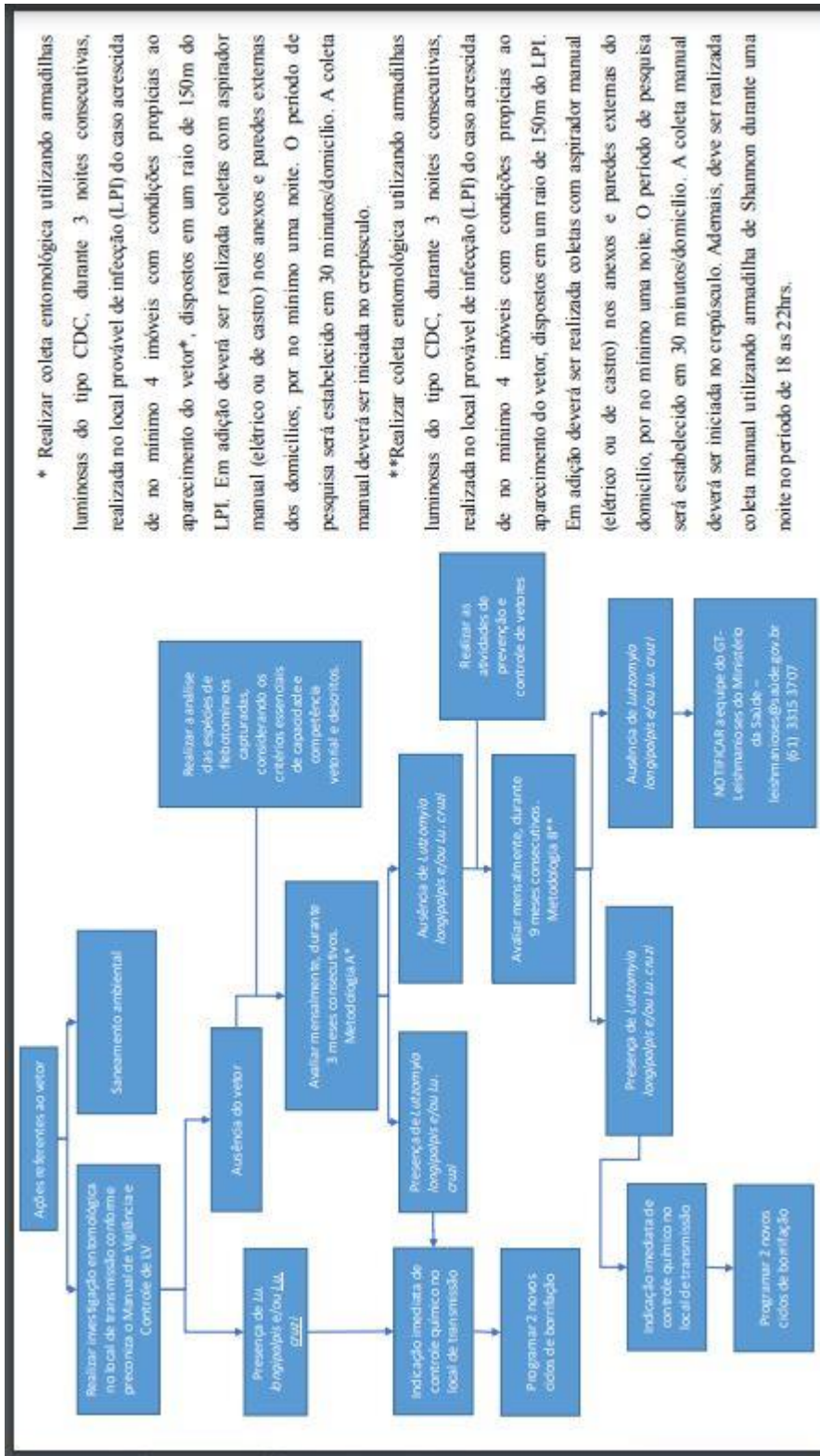


A autenticidade deste documento pode ser conferida no site: [http://sei.saude.gov.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](http://sei.saude.gov.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **6542557** e o código CRC **C2CF0C00**.

Brasília, 08 de novembro de 2018.

**Referência:** Processo nº 25000.194551/2018-93

SEI nº 6542557



\* Realizar coleta entomológica utilizando armadilhas luminosas do tipo CDC, durante 3 noites consecutivas, realizada no local provável de infecção (L.Pf) do caso acrescida de no mínimo 4 imóveis com condições propícias ao aparecimento do vetor\*, dispostos em um raio de 150m do LPI. Em adição deverá ser realizada coletas com aspirador manual (elétrico ou de castro) nos anexos e paredes externas dos domicílios, por no mínimo uma noite. O período de pesquisa será estabelecido em 30 minutos/domicílio. A coleta manual deverá ser iniciada no crepúsculo.

\*\*Realizar coleta entomológica utilizando armadilhas luminosas do tipo CDC, durante 3 noites consecutivas, realizada no local provável de infecção (L.Pf) do caso acrescida de no mínimo 4 imóveis com condições propícias ao aparecimento do vetor, dispostos em um raio de 150m do LPI. Em adição deverá ser realizada coletas com aspirador manual (elétrico ou de castro) nos anexos e paredes externas do domicílio, por no mínimo uma noite. O período de pesquisa será estabelecido em 30 minutos/domicílio. A coleta manual deverá ser iniciada no crepúsculo. Ademais, deve ser realizada coleta manual utilizando armadilha de Shannon durante uma noite no período de 18 as 22hrs.



## ANEXO 2 - Comprovante de Cadastro no Sistema Nacional De Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado

 <b>Ministério do Meio Ambiente</b> <b>CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO</b> SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO <b>Comprovante de Cadastro de Acesso</b> <b>Cadastro nº A3C05BB</b>	
<p>A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.</p>	
Número do cadastro:	<b>A3C05BB</b>
Usuário:	<b>Fiocruz</b>
CPF/CNPJ:	<b>33.781.055/0001-35</b>
Objeto do Acesso:	<b>Patrimônio Genético</b>
Finalidade do Acesso:	<b>Pesquisa</b>
<b>Espécie</b>	
Brumptomyia cunhai	
Brumptomyia nitzulescui	
Evandromyia edwardsi	
Evandromyia gaucha	
Martinsmyia alphabetica	
Migonemyia migonei	
Pintomyia fischeri	
Psathyromyia lanei	
Psathyromyia pascalei	
Título da Atividade:	<b>FIO-INI: Caracterização ecoepidemiológica da Leishmaniose Visceral Americana no município de Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil</b>
<b>Equipe</b>	
Elizabeth Ferreira Rangel	<b>Fiocruz</b>

### **ANEXO 3 - Publicações**

Born L.C. ,Afonso M.M.S, Lima M.M., Rangel E.F. Caracterização ecoepidemiológica da Leishmaniose Visceral Americana no município de Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil. Resultados Parciais. In: Jornada Jovens Talentos 2021, Instituto Oswaldo Cruz/ Fiocruz, 2021.

Premiado com Menção Honrosa pela apresentação.

Born L.C. ,Afonso M.M.S., Santana A.L.F., Lima M.M., Rangel E.F. Caracterização ecoepidemiológica da Leishmaniose Visceral Americana no município de Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil. In: I Encontro do Programa de Vigilância e Controle de Vetores – Integração Pesquisa e Serviços de Saúde, 2022.

Premiado com Primeiro Lugar - Melhor Pôster Virtual.

Born L.C. ,Afonso M.M.S., Santana A.L.F., Lima M.M., dos Santos, E., Souza, G.D., Rangel E.F. Potential vectors of *Leishmania infantum* (L. (L.) *infantum* chagasi) in Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, south of Brazil. In: WorldLeish7 -Leishmaniasis World Congress, Cartagena, Colombia, 2022.