

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**Fauna flebotomínica e detecção de DNA de *Leishmania* spp. em
maníferos de áreas de mata nativa do Mato Grosso do Sul, Centro-Oeste do
Brasil**

IARA BEATRIZ ANDRADE DE SOUSA

**Dourados – MS
2023**

IARA BEATRIZ ANDRADE DE SOUSA

Fauna flebotomínica e detecção de DNA de *Leishmania* spp. em mamíferos de áreas de mata nativa do Mato Grosso do Sul, Centro-Oeste do Brasil

Área do CNPq: 2.13.03.00-2- Entomologia e Malacologia de Parasitos e vetores

Área de ciências médicas e parasitologia

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), para obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Doenças Crônicas e Infecto-Parasitárias

Orientador: Prof^a. Dr^a. Herintha Coeto Neitzke Abreu.

Co-orientador: Prof. Dr. Manoel Sebastião da Costa Lima Junior.

Dourados - MS

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

S725f Sousa, Iara Beatriz Andrade De

Fauna flebotomínica e detecção de DNA de *Leishmania* spp. em mamíferos de áreas de mata nativa do Mato Grosso do Sul, Centro-Oeste do Brasil [recurso eletrônico] / Iara Beatriz Andrade De Sousa. -- 2023.

Arquivo em formato pdf.

Orientador: Herintha Coeto Neitzke Abreu.

Coorientador: Manoel Sebastião da Costa Lima Junior.

Tese (Doutorado em Ciências da Saúde)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2023.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Epidemiologia. 2. Leishmaniose. 3. Diversidade de espécies. 4. Transmissão. 5. Vetor. I. Abreu, Herintha Coeto Neitzke. II. Lima Junior, Manoel Sebastião Da Costa. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.



ATA DA DEFESA DE TESE DE DOUTORADO APRESENTADA POR IARA BEATRIZ ANDRADE DE SOUSA, ALUNA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO "DOENÇAS CRÔNICAS E INFECTO-PARASITÁRIAS".

Aos três dias do mês de agosto do ano de dois mil e vinte e três, às sete horas e trinta minutos, em sessão pública, realizou-se na Universidade Federal da Grande Dourados, a Defesa de Tese de Doutorado intitulada "**Fauna flebotomínica e detecção de DNA de *Leishmania* spp. em hospedeiros de áreas de mata nativa do Mato Grosso do Sul, Centro-Oeste do Brasil**", apresentada pela doutoranda Iara Beatriz Andrade de Sousa, do Programa de Pós-graduação em, à Banca Examinadora constituída pelos membros: Prof.^a Dr.^a Herintha Coeto Neitzke Abreu/UFGD (presidente/orientadora), Prof.^a Dr.^a Kelly Mari Pires de Oliveira/UFGD (membro titular interno), Prof. Dr. José Dilermando Andrade Filho (membro titular externo), Prof. Dr. Luiz Carlos Alves/FIOCRUZ (membro titular externo), Prof.^a Dr.^a Cristiane Maria Colli/UFGD (membro titular externo). Iniciados os trabalhos, a presidência deu a conhecer à candidata e aos integrantes da banca as normas a serem observadas na apresentação da Tese. Após a candidata ter apresentado a sua Tese, os componentes da Banca Examinadora fizeram suas arguições. Terminada a Defesa, a Banca Examinadora, em sessão secreta, passou aos trabalhos de julgamento, tendo sido a candidata considerada aprovada. A Presidente da Banca atesta a participação dos membros que estiveram presentes de forma remota, conforme declarações anexas. Nada mais havendo a tratar, lavrou-se a presente ata, que vai assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Dourados/MS, 03 de agosto de 2023.

Documento assinado digitalmente
gov.br HERINTHA COETO NEITZKE ABREU
Data: 03/08/2023 13:36:36-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof.^a Dr.^a Herintha Coeto Neitzke Abreu
Presidente/orientadora

Prof.^a Dr.^a Kelly Mari Pires de Oliveira
Membro Titular Interno
(Participação Remota)

Prof. Dr. José Dilermando Andrade Filho
Membro Titular Externo
(Participação Remota)

Prof. Dr. Luiz Carlos Alves
Membro Titular Externo
(Participação Remota)

Prof.^a Dr.^a Cristiane Maria Colli
Membro Titular Externo
(Participação Remota)



Ministério da Educação
Universidade Federal da Grande Dourados
Pró-Reitoria de Ensino de Pós-Graduação e Pesquisa



CERTIFICADO

Certificamos que KELLY MARI PIRES DE OLIVEIRA participou, como Membro Titular, da banca examinadora de defesa da tese de doutorado de IARA BEATRIZ ANDRADE DE SOUSA, do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Grande Dourados, com trabalho intitulado **Fauna flebotômica e detecção de DNA de *Leishmania* spp. em hospedeiros de áreas de mata nativa do Mato Grosso do Sul, Centro-Oeste do Brasil**, no dia 03 de agosto de 2023.

Composição da banca:

Dr.^a Herintha Coeto Neitzke Abreu - Presidente
Dr.^a Cristiane Maria Colli - Membro Titular
Dr. José Dilermando Andrade Filho - Membro Titular
Dr.^a Kelly Mari Pires De Oliveira - Membro Titular
Dr. Luiz Carlos Alves - Membro Titular

Dourados/MS, 03 de agosto de 2023.

A autenticidade desse documento pode ser confirmada na página de internet da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), no endereço <http://sistemas.ufgd.edu.br/webdoc>, por meio do **Código de Controle: 207.692.721.300 - Data: 07/08/2023 - Hora: 08:08**.



Ministério da Educação
Universidade Federal da Grande Dourados
Pró-Reitoria de Ensino de Pós-Graduação e Pesquisa



CERTIFICADO

Certificamos que JOSÉ DILERMANDO ANDRADE FILHO participou, como Membro Titular, da banca examinadora de defesa da tese de doutorado de IARA BEATRIZ ANDRADE DE SOUSA, do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Grande Dourados, com trabalho intitulado **Fauna flebotômica e detecção de DNA de *Leishmania* spp. em hospedeiros de áreas de mata nativa do Mato Grosso do Sul, Centro-Oeste do Brasil**, no dia 03 de agosto de 2023.

Composição da banca:

Dr.^a Herintha Coeto Neitzke Abreu - Presidente
Dr.^a Cristiane Maria Colli - Membro Titular
Dr. José Dilermando Andrade Filho - Membro Titular
Dr.^a Kelly Mari Pires De Oliveira - Membro Titular
Dr. Luiz Carlos Alves - Membro Titular

Dourados/MS, 03 de agosto de 2023.

A autenticidade desse documento pode ser confirmada na página de internet da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), no endereço <http://sistemas.ufgd.edu.br/webdoc>, por meio do **Código de Controle: 156.710.250.900 - Data: 07/08/2023 - Hora: 08:08**.





CERTIFICADO

Certificamos que LUIZ CARLOS ALVES participou, como Membro Titular, da banca examinadora de defesa da tese de doutorado de IARA BEATRIZ ANDRADE DE SOUSA, do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Grande Dourados, com trabalho intitulado **Fauna flebotômica e detecção de DNA de *Leishmania* spp. em hospedeiros de áreas de mata nativa do Mato Grosso do Sul, Centro-Oeste do Brasil**, no dia 03 de agosto de 2023.

Composição da banca:

Dr.^a Herintha Coeto Neitzke Abreu - Presidente
Dr.^a Cristiane Maria Colli - Membro Titular
Dr. José Dilermando Andrade Filho - Membro Titular
Dr.^a Kelly Mari Pires De Oliveira - Membro Titular
Dr. Luiz Carlos Alves - Membro Titular

Dourados/MS, 03 de agosto de 2023.

A autenticidade desse documento pode ser confirmada na página de internet da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), no endereço <http://sistemas.ufgd.edu.br/webdoc>, por meio do Código de Controle: 784.349.575.000 - Data: 07/08/2023 - Hora: 08:08.



CERTIFICADO

Certificamos que CRISTIANE MARIA COLLI participou, como Membro Titular, da banca examinadora de defesa da tese de doutorado de IARA BEATRIZ ANDRADE DE SOUSA, do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Grande Dourados, com trabalho intitulado **Fauna flebotômica e detecção de DNA de *Leishmania* spp. em hospedeiros de áreas de mata nativa do Mato Grosso do Sul, Centro-Oeste do Brasil**, no dia 03 de agosto de 2023.

Composição da banca:

Dr.^a Herintha Coeto Neitzke Abreu - Presidente
Dr.^a Cristiane Maria Colli - Membro Titular
Dr. José Dilermando Andrade Filho - Membro Titular
Dr.^a Kelly Mari Pires De Oliveira - Membro Titular
Dr. Luiz Carlos Alves - Membro Titular

Dourados/MS, 03 de agosto de 2023.

A autenticidade desse documento pode ser confirmada na página de internet da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), no endereço <http://sistemas.ufgd.edu.br/webdoc>, por meio do Código de Controle: 457.737.289.000 - Data: 07/08/2023 - Hora: 08:08.



DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus filhos
Alexander e Elisa, por serem minha
inspiração e razão de viver.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a **Deus**, pelo dom da vida, por me dar saúde e me dar forças frente a cada dificuldade que surgiram durante esses longos 4 anos, me mostrando sempre o caminho certo a seguir.

À minha família, em especial as minhas mães Sebastiana, Lucineide, Lucilene, Luciaurea e Luciane, que nunca mediram esforços para me dar a melhor educação que lhe era possível. A vocês serei eternamente grata e deverei todas as minhas vitórias.

Ao meu marido Antonio, pelo incentivo, apoio, companheirismo e por sempre acreditar em mim.

Aos meus filhos Alexander e Elisa por serem minha fonte de amor, resiliência e persistência. A vocês dedico todos os dias da minha vida.

À Profa. Dra. Herintha Coeto Neitzke-Abreu, minha orientadora, muito obrigada pela oportunidade, por me acolher durante todos esses anos e me deixar fazer parte desse grupo. Obrigada por toda orientação, ensinamentos, desabafos, choros, paciência e principalmente por fazer parte da minha trajetória profissional. Obrigada por entender minhas limitações e me incentivar a superá-las. Muito obrigada por confiar em mim. Sempre estará em minhas orações!

Ao Prof. Dr. Manoel Sebastião da Costa Lima Junior, meu co-orientador, pela ajuda e apoio em todos os momentos necessários. Obrigada por toda a atenção, por todos os ensinamentos e constantes conselhos científicos.

Ao Dr. Paulo Silva de Almeida, pela simplicidade e acolhimento, por todo o conhecimento que me passou, pelo constante apoio e confiança.

Aos alunos de Iniciação Científica, a mestranda Kamily Fagundes Pussi pelo companheirismo, dedicação e comprometimento.

Ao Gabriel Barbosa Costa pela divertida companhia durante o trabalho de campo e por todos os momentos divididos no laboratório.

À equipe de enfermagem da UBCME do HU-UFGD/Ebserh por ter me incentivado e apoiado o início da minha jornada.

Às minhas colegas de trabalho, de sala e de jornada da Divisão de Enfermagem do HU-UFGD/Ebserh pela compreensão das minhas ausências e apoio para que eu conseguisse finalizar esta tese.

A Maria Mauricia Martins de Lemos, a Dra. Ellen Daiane Biavatti de Oliveira Algeri e a Rosana Matos Queiroz por não me deixar desistir.

À Universidade Federal da Grande Dourados e ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde pela oportunidade.

A todos que de alguma forma contribuíram para a elaboração desse trabalho, meus sinceros agradecimentos.

EPÍGRAFE

“Faça o teu melhor, nas condições que você tem,
enquanto não tem condições melhores para fazer
melhor ainda.”

(Mario Sergio Cortella)

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Casos de leishmaniose visceral, Região das Américas e sub-regiões, 2001-2020	20
Figura 2 - Número de casos por unidade da federação no período de 2010 a 2019.....	20
Figura 3- Casos de leishmaniose visceral notificados e confirmados no estado de Mato Grosso do Sul, 2012 a 2021.....	21
Artigo 1	
Figura 1- Mão esquerda mostrando a lesão formada no local da picada do carrapato.....	42
Manuscrito 2	
Graphical Abstract	65
Figure 1- Geographical location of the study area and sand fly collection points between March/19 and February/20 at Fazenda Guarani, Nova Andradina, Mato Grosso do Sul, Brazil.	66
Figure 2- Relationship between abundance and sex of sand flies collected, Nova Andradina, Mato Grosso do Sul, Brazil, 2019 to 2020.....	66
Figure 3- Collection flowchart, species identification and molecular analysis, Nova Andradina, Mato Grosso do Sul, 2019-2020.....	67
Figure 4- Correlation graphs between the number of sand flies (total, females and males) and climate variables (temperature, monthly precipitation index and relative humidity), Nova Andradina, Mato Grosso do Sul, Brazil, 2019-2020.....	67
Figure S1- Sand fly collection points between March/19 and February/20 at Fazenda Guarani, Nova Andradina, Mato Grosso do Sul, Brazil.....	68
Figure S2- Formulas used for statistical analysis.....	69
Manuscrito 3	
Figure 1- Distribution of CDC-type light traps and monitoring points in the 4th Mechanized Cavalry Brigade, Dourados, Mato Grosso do Sul, 2021.....	97
Figure 2- Distribution of the monthly hourly average of sand flies in relation to climatic variables, from January to December, Dourados, Mato Grosso do Sul, 2021	97
Figure 1S- Installation locations of CDC-type light traps in the 4th Mechanized Cavalry Brigade, Dourados, Mato Grosso do Sul, 2021	98
Graphical Abstract	99

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Número de casos de leishmaniose tegumentar no Brasil, de acordo com o ano de diagnóstico, de 2010 a 2019	18
Tabela 2- Número de notificações de casos confirmados de Leishmaniose Tegumentar por Unidade Federativa entre 2010 e 2019.....	18
Tabela 3- Distribuição das espécies de flebotomíneos encontradas em Dourados e Nova Andradina estado do Mato Grosso do Sul (MS).....	25
Tabela 4- Apresentação de artigo/manuscritos conforme alcance dos objetivos específicos propostos.....	38

Manuscrito 3

Tabela 1- Distribution of sandfly species occurring in the 4th Mechanized Cavalry Brigade of Dourados, Mato Grosso do Sul, 2021	95
Tabela 2- Socioepidemiological variables analyzed among military personnel, Dourados, Mato Grosso do Sul, 2021.....	96
Tabela 1S- Description of the installation locations of CDC-type light traps in the 4th Mechanized Cavalry Brigade, Dourados, Mato Grosso do Sul, 2021.....	98

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

DN - Doenças Negligenciada

LT- Leishmaniose Tegumentar

LM - Leishmaniose Mucosa

LV- Leishmaniose Visceral

LVC - Leishmaniose Visceral Canina

MS - Mato Grosso do Sul

OMS - Organização Mundial de Saúde

OPAS - Organização Pan-americana de Saúde

PCR - Reação em Cadeia de Polimerase

SIH/SUS - Sistema de Informações Hospitalares do Sistema Único de Saúde

SINAN - Sistema Nacional de Agravos de Notificação

Artigo 1

PCR - Reação em Cadeia de Polimerase

LTA- Leishmaniose Tegumentar Americana

LVC- Leishmaniose Visceral Canina

Manuscrito 2

CL- Cutaneous leishmaniasis

COPASUL- Cooperativa Agrícola Sul Matogrossense

MS- Mato Grosso do Sul

NA- Nova Andradina

PCR- Polymerase Chain Reaction

UFGD- Universidade Federal da Grande Dourados

VL- Visceral leishmaniasis

♀ - Sexo Feminino

♂ - Sexo Masculino

Manuscrito 3

4ª Bda C MEC- 4ª Brigada de Cavalaria Mecanizada

CDC - Center on Disease Control

CEUA- Comissão de Ética em Uso de Animais

CEP- Comitê de Ética em Pesquisa

CHD- Centro Hípico de Dourados

DPP- Dual Path Platform

F- Fêmea

INMET- Instituto Nacional de Meteorologia

LC- Leishmaniose Cutânea

LV- Leishmaniose Visceral

LVC- Leishmaniose Visceral Canina

M- Macho

Máx- Máximo

Mín- Mínimo

MS- Mato Grosso do Sul

PCR - Reação em Cadeia de Polimerase

SisGen- Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional

Associado

Fauna flebotomínica e detecção de DNA de *Leishmania* spp. em mamíferos de áreas de mata nativa do Mato Grosso do Sul, Centro-Oeste do Brasil

RESUMO

Introdução: A leishmaniose é uma doença causada pelos parasitos do gênero *Leishmania*, que são transmitidos pela picada de insetos (flebotomíneos) fêmeas infectadas. Dependendo da espécie infectante, *Leishmania* pode causar a leishmaniose tegumentar (LT) ou a leishmaniose visceral (LV). Os agentes etiológicos compreendem protozoários de 21 espécies do gênero *Leishmania* e, em determinadas situações, cães e equinos são sugeridos como hospedeiros/reservatórios. **Objetivos:** avaliar o possível envolvimento do carrapato na contaminação de um indivíduo em Nova Andradina, MS, Brasil; pesquisar a fauna flebotomínica e DNA de *Leishmania* em mata nativa de Nova Andradina (NA); investigar a diversidade de flebotomíneos e hospedeiros animais e humanos em mata nativa de área militar de Dourados, MS, Brasil. **Metodologia:** Para o relato de caso foram realizadas biopsia e PCR para pesquisa de *Leishmania* spp. em lesão de pele de um indivíduo. Foram utilizados dados primários coletados em área rural de Nova Andradina de mar/2019 a fev/2020 e em área militar de Dourados de jan/2021 a dez/2021.. Quanto ao estudo da fauna flebotomínica, foram instaladas no período noturno armadilhas luminosas tipo Falcão modificada em 05 pontos de coleta em área rural de Nova Andradina por 1 dia durante 11 meses. E instaladas armadilhas do tipo CDC (Center Disease Control), em 08 pontos de coletas na área militar de Dourados por 3 dias consecutivos durante 12 meses. Após identificação das espécies o DNA extraído das fêmeas foi submetido a PCR (reação em cadeia da polimerase) com Multiplex-PCR com os primers 13A/13B para pesquisa de DNA de *Leishmania* spp. Em Dourados foi realizada coleta de sangue periférico em 235 militares e em 35 animais domésticos (cavalos e cães), o DNA extraído foi submetido a PCR com os primers LITSR / L5.8S. **Resultados:** Na lesão de pele analisada, evidenciou-se a presença de formas sugestivas de amastigotas de *Leishmania* e detecção do DNA de *Leishmania* spp. na PCR. Ao todo foram capturadas 42.933 flebotomíneos em NA, razão macho:fêmea (0,3:1), com predominância da espécie *Nyssomyia neivai* (96,5%), vetor comprovado de *Leishmania brasiliensis* e uma taxa de detecção de DNA de 0,1%. Na área militar de Dourados, foram capturados 652 exemplares pertencentes a 18 espécies diferentes, *Lutzomyia longipalps*, principal vetor de *Leishmania infantum* (agente etiológico de leishmaniose visceral), apesar de pouca quantidade (10;1,5%), esteve presente em metade dos pontos de coleta (mata e peridomicílio). A taxa de detecção de DNA de *Leishmania* spp. foi de

0,31% (um *pool* de *Psathyromyia* sp. e um *pool* de *Brumptomyia* sp.). Não foi detectado DNA de *Leishmania* em hospedeiros vertebrados analisados (militares, cavalos e cães). **Conclusão:** Em ambas as áreas analisadas foi observada a presença de espécies vetores, tanto de LT quanto de LV. Estes achados, associado ao diagnóstico confirmado de LT em um paciente de NA, deve servir de alerta para os órgãos competentes quanto a possibilidade de expansão da LT em Nova Andradina. Principalmente, considerando que a área analisada tem sido utilizada com frequência para atividades de lazer, além da confirmação do diagnóstico de LT em um indivíduo nesta mesma área. Também gera um alerta para a possibilidade de transmissão futura do parasito que causa LV em Dourados devido a área militar apresentar características favoráveis a disseminação do vetor, proximidade com a área urbana e circulação de DNA de *Leishmania* spp. Esse estudo, descreve uma investigação que indicará ações de controle, tanto em atividades educativas no que tange a medidas preventivas individuais e para preservação do meio ambiente, quanto na manutenção dos locais em que os animais estão alojados e circulam pois são fatores que impedem a proliferação de *Leishmania* spp. no ambiente urbano e peri-urbano.

Palavras-chaves: Epidemiologia. Leishmaniose. Diversidade de espécies. Transmissão. Vetor.

Sand fly fauna and DNA detection of *Leishmania* spp. in mammals from native forest areas of Mato Grosso do Sul, Midwest Brazil

ABSTRACT

Introduction: Leishmaniasis is a disease caused by parasites of the genus *Leishmania*, which are transmitted by the bite of infected female insects (phlebotomines). Depending on the infecting species, *Leishmania* can cause cutaneous leishmaniasis (TL) or visceral leishmaniasis (VL). The etiological agents include protozoa from 21 species of the genus *Leishmania* and, in certain situations, dogs and horses are suggested as hosts/reservoirs. **Objectives:** To evaluate the possible involvement of the tick in the contamination of an individual in Nova Andradina, MS, Brazil; research the sandfly fauna and *Leishmania* DNA in native forest of Nova Andradina (NA); investigate the diversity of sandflies and animal and human hosts in native forest in a military area of Dourados, MS, Brazil. **Methodology:** For the case report, biopsy and PCR were performed to search for *Leishmania* spp. in an individual's skin lesion. Primary data collected in a rural area of Nova Andradina from Mar/2019 to Feb/2020 and in a military area of Dourados from Jan/2021 to Dec/2021 were used. Modified Falcão light traps were installed at night at 05 collection points in a rural area of Nova Andradina for 1 day over 11 months. CDC (Center Disease Control) type traps were installed at 8 collection points in the military area of Dourados for 3 consecutive days for 12 months. After identifying the species, the DNA extracted from the females was subjected to PCR (polymerase chain reaction) with Multiplex-PCR with primers 13A/13B to search for *Leishmania* spp. DNA. In Dourados, peripheral blood was collected from 235 military personnel and 35 domestic animals (horses and dogs), the extracted DNA was subjected to PCR with the primers LITSR / L5.8S. **Results:** In the skin lesion analyzed, the presence of forms suggestive of *Leishmania* amastigotes and detection of DNA of *Leishmania* spp. in PCR. In total, 42,933 sandflies were captured in NA, male:female ratio (0.3:1), with a predominance of the species *Nyssomyia neivai* (96.5%), proven vector of *Leishmania brasiliensis* and a DNA detection rate of 0.1 %. In the military area of Dourados, 652 specimens belonging to 18 different species were captured, *Lutzomyia longipalps*, the main vector of *Leishmania infantum* (etiological agent of visceral leishmaniasis), despite a small quantity (10; 1.5%), was present in half of the collection points (forest and near-domestic areas). The DNA detection rate of *Leishmania* spp. was 0.31% (one pool of *Psathyromyia* sp. and one pool of *Brumptomyia* sp.). No *Leishmania* DNA was detected in the vertebrate hosts analyzed

(military personnel, horses, and dogs). **Conclusion:** In both areas analyzed, the presence of vector species was observed, both for LT and LV. These findings, associated with the confirmed diagnosis of TL in an NA patient, should serve as a warning to the competent bodies regarding the possibility of expanding LT in Nova Andradina. Mainly, considering that the area analyzed has been frequently used for leisure activities, in addition to confirming the diagnosis of TL in an individual in this same area. It also raises an alert for the possibility of future transmission of the parasite that causes VL in Dourados due to the military area presenting characteristics favorable to the spread of the vector, proximity to the urban area and circulation of *Leishmania* spp DNA. This study describes an investigation that will indicate control actions, both in educational activities regarding individual preventive measures and environmental preservation, and in the maintenance of the places where animals are housed and circulate as they are factors that prevent proliferation. of *Leishmania* spp. in the urban and peri-urban environment.

Keywords: Epidemiology. Leishmaniasis. Species diversity. Streaming. Vector.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1. Breve histórico das leishmanioses.....	20
2.1.1. Leishmaniose tegumentar.....	20
2.1.2. Leishmaniose visceral.....	23
2.2. Epidemiologia das leishmanioses em áreas militares.....	26
2.3. Flebotomíneo.....	27
2.3.1. Fauna de flebotomíneos no Mato Grosso do Sul.....	28
2.3.2. A influência do ambiente sobre a população de flebotomíneos.....	30
2.4. Reservatórios/Hospedeiros vertebrados.....	31
2.5. Diagnóstico laboratorial.....	32
2.6. Medidas de prevenção e controle das leishmanioses.....	33
3. OBJETIVOS	34
4. REFERÊNCIAS	35
5. APÊNDICES	42
Artigo 1:.....	43
Ocorrência de leishmaniose tegumentar em prévia picada de carrapato: um relato de caso	43
Manuscrito 2:.....	50
Fauna and DNA detection of Leishmania spp. in sand flies from Nova Andradina, Mato Grosso do Sul, Brazil.....	50
Manuscrito 3:.....	74
Characterization of sandfly fauna and potential hosts of Leishmania in a military area of Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil.....	74
6. CONCLUSÕES.....	104
7. ANEXOS	106
7.1. Parecer de aprovação do Sistema de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado.....	107
7.2. Parecer de aprovação do comitê de ética no uso de animais e ficha de coleta de dados	109
7.3. Parecer de aprovação do comitê de ética e ficha de coleta de dados.....	111

1. INTRODUÇÃO

As leishmanioses são causadas pelos parasitos protozoários do gênero *Leishmania*, que são transmitidos pela picada de insetos fêmeas (flebotomíneos) infectados. Dependendo da espécie do agente etiológico, a *Leishmania* pode causar a leishmaniose tegumentar (LT), leishmaniose mucosa (LM) ou a leishmaniose visceral (LV), sendo a LT e a LV as formas clínicas mais comuns (ALVAR et al., 2004). Para que o ciclo da doença ocorra é necessária a presença desses três elementos, agente etiológico (*Leishmania*), vetor (flebotomíneo) e reservatórios (homem e/ou animais vertebrados) (GALVIS-OVALLOS et al., 2021; OLIVEIRA et al., 2012).

Os agentes etiológicos compreendem protozoários do gênero *Leishmania*. No Brasil há oito espécies do protozoário envolvidas na transmissão das leishmanioses, sendo sete agentes etiológicos da LT, com destaque para: *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, *L. (Viannia) guyanensis* e *L. (Viannia) braziliensis* devido a sua abrangência e uma relacionada à transmissão da LV, *Leishmania (Leishmania) infantum* (LIMA et al., 2021; SANTOS SOUSA et al., 2022). Estas espécies de *Leishmania* são transmitidas por diferentes espécies de vetores, sendo catalogadas no Brasil 297 espécies e oito subespécies de flebotomíneos (SHIMABUKURO ET AL. 2023) destas, no Mato Grosso do Sul (MS), são encontradas oito com suspeita vetorial, sendo seis de LT (*Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939), *Nyssomyia neivai* (Pinto, 1926), *Migonemyia migonei* (França, 1920) *Pintomyia pessoai* (Coutinho & Barretto, 1940), *Bichromomyia flaviscutellata* (Mangabeira, 1942) e *Pintomyia fischeri* (Pinto, 1926)) e duas de LV (*Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) e *Lutzomyia cruzi* (Mangabeira, 1938)) (NEITZKE-ABREU et al., 2022).

Com relação aos reservatórios/hospedeiros, 20 a 30 espécies podem estar envolvidos no ciclo das leishmanioses entre os quais encontramos principalmente os roedores na disseminação do agente etiológico da LT (MOKNI, 2019) e os cães domésticos na disseminação do agente etiológico da LV. Em ambas as formas o homem atua como um hospedeiro acidental (QUINNELL; COURTENAY, 2009).

Ao abordar o contexto sintomatológico destaca-se que a LT forma lesões de pele e mucosas, que podem ser únicas, múltiplas, disseminadas ou difusas. As lesões mucosas são mais frequentes no nariz, boca e garganta (BRASIL, 2017). O diagnóstico da doença se baseia na avaliação clínico-epidemiológica e laboratorial, com base nas características da lesão, detecção do parasito ou de seus produtos em tecidos biológicos. Nas Américas, foram registrados 37.786 casos em 2021, no Brasil neste mesmo período foram 15.023 (39,8%) casos de LT (PAHO, 2022). De acordo com o Sistema de Informação de Agravos de Notificação

(SINAN) no ano de 2022 foram diagnosticados 86 casos de LT em seres humanos no estado do Mato Grosso do Sul (MS) evidenciando um incremento de 38,7% quando comparado ao ano de 2021 (FRIAS; BARBOSA; OLIVEIRA, 2022).

Em relação a LV, também conhecida como calazar, é a forma mais grave da doença e frequentemente fatal se não for tratada (ALVAR et al., 2012; READY, 2014), sendo caracterizada por episódios irregulares de febre, perda de peso, aumento do baço e do fígado e anemia, podendo ser confundida com outras doenças comuns associadas à febre, incluindo a malária (BANU et al., 2016; SINGH et al., 2016). O diagnóstico de LV baseia-se em manifestações clínicas, dados epidemiológicos e laboratoriais (LÓPEZ-FUERTES et al., 2010). Segundo a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), em 2021, 93,5% dos casos de LV das Américas foram registrados no Brasil (PAHO, 2022). No cenário nacional o MS tem a maior incidência de LV dentre os estados da região centro-oeste, com confirmação de 151 casos neste mesmo ano (FRIAS; BARBOSA; OLIVEIRA, 2022).

No que se refere às áreas analisadas nesta tese, em dezembro de 2018 houve a notificação de um caso em humano de LT na cidade de Nova Andradina, que nos levou a realizar uma investigação entomológica nesta área, com o objetivo de identificar a espécie de flebotomíneo envolvida na transmissão do protozoário. Outro local estudado se refere a pesquisa de LV no município de Dourados que, embora as taxas de infecção humana sejam baixas em relação à realidade nacional, chama a atenção o registro de casos em cães há cerca de 20 anos e a presença confirmada do vetor. É corroborado que em regiões endêmicas casos em animais precedem casos em humanos. Além disso, cabe ressaltar que condições socioambientais como proximidade com a área urbana e alto fluxo de pessoas favorecem a ocorrência da doença, expondo a população ao risco.

A despeito das características epidemiológicas das leishmanioses em função da peculiaridade de cada região brasileira, torna-se complexo o controle dessa endemia. O pouco conhecimento sobre as leishmanioses nas áreas analisadas neste estudo é um agravante à saúde pública, principalmente ao considerar sua localização urbana ou sua proximidade com o município. Assim, este projeto se faz necessário pois a partir do conhecimento da fauna de flebotomíneos e da detecção de DNA de *Leishmania* spp. nos possíveis hospedeiros (vertebrados e invertebrados) visa fornecer subsídios para a tomada de decisão sobre o monitoramento e controle da doença, bem como ampliar os conhecimentos sobre a epidemiologia das leishmanioses no Mato Grosso do Sul.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Breve histórico das leishmanioses

As doenças negligenciadas correspondem a um conjunto de doenças que acometem principalmente grupamentos populacionais que vivem em situação de vulnerabilidade e desigualdade social; é relevante considerar que estes indivíduos não são alvo de recursos governamentais consideráveis, investimentos de pesquisa ou atenção das grandes empresas farmacêuticas, medidas de promoção de saúde, aplicação de medicamentos, vacinas e outras estratégias de prevenção (SANTOS SOUSA et al., 2022; WERNECK; HASSELMANN; GOUVÊA, 2011).

Dentre as principais doenças negligenciadas (DN), destacam-se as leishmanioses que conceitualmente apresentam-se como uma antropozoonose, sendo considerada como um grave problema de saúde pública de importante espectro clínico e diversidade epidemiológica. As leishmanioses são causadas por parasitos protozoários do gênero *Leishmania*. que de acordo com dados da OMS, o Brasil atende aos critérios de endemicidade devido às dimensões continentais, diversidade de fauna e flora e ainda diferenças espaciais quanto ao processo de adoecimento. Clinicamente existem três tipos de leishmaniose: a leishmaniose tegumentar (LT), a leishmaniose mucosa (LM) e a leishmaniose visceral (LV) (BRASIL, 2017; DE LIMA et al., 2021; SANTOS SOUSA et al., 2022).

Nos últimos 20 anos, foram notificados à Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) 1.105.545 casos de LT e LM, com uma média de 52.645 por ano e 69.665 casos novos de LV, com média anual de 2.488 casos. Apesar de ser observado redução dos casos de LT partir de 2005 e de LV a partir de 2011, os números ainda são muito altos, com o destaque do Brasil tanto para LT quanto LV, figurando entre as regiões do mundo com maior número de novos casos diagnosticados anualmente acumulando a primeira colocação em ambas as formas clínicas na região das américas (39,8% dos casos de LT e 93,5% dos casos de LV) (PAHO, 2022).

Diante o impacto da LV e da LT no cenário epidemiológico brasileiro é importante destacar e ampliar conceitos sobre elas nos tópicos a seguir.

2.1.1. Leishmaniose tegumentar

A LT é considerada como uma doença zoonótica, de natureza endêmica, infecciosa e não contagiosa que acomete primordialmente pele e mucosas, ressalta-se a ampla diversidade

de aspectos clínicos e morfológicos. A precocidade diagnóstica da LT nos serviços de saúde é dificultada, visto que suas lesões podem ser confundidas com outras doenças de sintomatologia clínicas similares (SANTOS et al., 2022).

Ao abordar o contexto sintomatológico destaca-se que a LT forma lesões de pele e mucosas, que podem ser únicas, múltiplas, disseminadas ou difusas. O aspecto de ulceração apresenta bordas elevadas e fundo granuloso, geralmente indolor. As lesões mucosas são mais frequentes no nariz (entupimentos; sangramentos; coriza; aparecimento de crostas; feridas), boca (feridas e crostas) e garganta (dor ao engolir; rouquidão; tosse) (BRASIL, 2017).

O quadro sintomatológico da LT pode incluir ainda: febre, mal-estar geral, dores musculares, emagrecimento e anorexia. No tocante, às ulcerações de pele pode ocorrer o aparecimento de múltiplas lesões papulares e de aparência (natureza) acneiforme que acometem vários segmentos corporais, envolvendo primordialmente a face e o tronco (BRASIL, 2017; SANTOS et al., 2022).

Apesar da baixa mortalidade, após o tratamento, a presença de cicatrizes pode gerar impactos negativos e ainda danos físicos e emocionais nos pacientes com LT. Isto interfere na construção da autoimagem e na qualidade de vida dos mesmos, atribuindo um componente a leishmaniose tegumentar um patamar de doença de repercussão ocupacional (SILVA JUNIOR et al., 2020).

A LT figura como um problema de saúde pública em 85 países, apresentando casos diagnosticados anualmente em quatro continentes (Américas, Europa, África e Ásia) e com registro anual de 0,7 a 1,3 milhões de casos novos. De acordo com a OMS, a LT está incluída dentro do grupo de uma das seis mais importantes doenças infecciosas a nível mundial em virtude do alto coeficiente de detecção e a capacidade de produzir deformidades (BRASIL, 2017).

Em território brasileiro, no período de 2010 a 2019 foram notificados 202.652 casos de LT no Brasil, ainda é possível afirmar que há uma ampla distribuição com registro de casos em todas as regiões brasileiras (Tabela 1) (GOMES; FERREIRA, 2022).

Ao considerar o contexto de distribuição epidemiológica por regiões destaca-se que foram registrados: 88.610 (43,7%) na região Norte, 60.523 (29,9%) na região Nordeste, 29.440 (14,5%) na região Centro-Oeste, 20.494 (10,1%) na região Sudeste e 3.585 (1,8%) na região Sul. O estado com maior número de ocorrências de casos clínicos diagnosticados foi o estado do Pará, registrando 33.690 (16,6%) casos, seguido da Bahia com 29.400 (14,5%) registros e Mato Grosso com 23.199 (11,4%) casos confirmados (Tabela 2) (GOMES; FERREIRA, 2022).

Tabela 1- Número de casos de leishmaniose tegumentar no Brasil, de acordo com o ano de diagnóstico, de 2010 a 2019

Ano de diagnóstico	Número de casos
2010	23.770
2011	22.935
2012	25.198
2013	19.656
2014	21.989
2015	20.694
2016	13.936
2017	18.940
2018	17.812
2019	16.132
TOTAL DE CASOS	202.652

Fonte: Adaptado pela autora a partir de GOMES; FERREIRA, 2022.

Tabela 2- Número de notificações de casos confirmados de leishmaniose tegumentar por Unidade Federativa entre 2010 e 2019

Unidade Federativa	Número de casos
Pará	33.690
Bahia	29.400
Mato Grosso	23.199
Maranhão	18.869
Amazonas	17.166
Minas Gerais	15.056
Acre	10.745
Rondônia	10.685
Amapá	7.161
Ceará	6.321
Tocantins	4.708
Roraima	4.455
Goiás	4.441
São Paulo	3.505
Pernambuco	3.480
Paraná	3.330
Espírito Santo	1.361
Mato Grosso do Sul	1.281
Piauí	1.047
Alagoas	608
Paraíba	582
Rio de Janeiro	572
Distrito Federal	519
Santa Catarina	185
Rio Grande do Norte	149
Sergipe	72
Total	202.652

Fonte: Adaptado pela autora a partir de GOMES; FERREIRA, 2022.

No acumulado de 2007 a 2022 o MS teve 1.898 casos registrados no SINAN, destes apenas 86 casos foram diagnosticados em 2022, sendo observado um aumento de 38,7% em relação ao ano de 2021. Segundo o ministério da saúde, os municípios são classificados quanto

a taxa de transmissão baseada no número de casos, podendo ser classificada como transmissão esporádica (abaixo de 2,4 casos), moderada (entre 2,4 e 4,4 casos) e intensa (acima de 4,4 casos). Nesta classificação, a capital do estado, Campo Grande, apresenta a maior taxa de transmissão (12,33) o que a classifica como de intensa transmissão e a região de Nova Andradina é classificada como de transmissão esporádica (abaixo de 2,4 casos/ano) (FRIAS; BARBOSA; OLIVEIRA, 2022; SINAN, 2023).

De todos os municípios apenas quatro não possuem caso notificado de LT sendo estes: Paraíso das águas, Anaurilândia, Jaraguari e Selvíria, destes, somente dois não tinham a presença do vetor comprovado/suspeito (NEITZKE-ABREU et al., 2022)

2.1.2. Leishmaniose visceral

A leishmaniose visceral é uma zoonose parasitária de evolução crônica e com acometimento sistêmico em órgãos como: medula óssea, baço e fígado. O contexto sintomatológico confere a LV o patamar de doença sistêmica infecciosa destacando-se manifestações clínicas como: febre de longa duração, aumento perceptível do fígado e baço, perda de peso, fraqueza, redução da força muscular, palidez na pele e anemia (FRIAS; BARBOSA; OLIVEIRA, 2022).

De acordo com dados divulgados pela OPAS, a LV é endêmica em 79 países, com cerca de 95% dos casos concentrados em dez países localizados em diversos continentes: Brasil, China, Etiópia, Índia, Iraque, Quênia, Nepal, Somália, Sudão e Sudão do Sul. Em território americano é considerada como doença endêmica em 13 países com 69.665 novos casos no período de 2001 a 2021 e média de 2.488 casos por ano (FRIAS; BARBOSA; OLIVEIRA, 2022; WHO, 2021).

Em 2021, 93,5% (1.682) dos casos diagnosticados no mundo foram notificados pelo Brasil, que concentra todos os municípios das Américas classificados com transmissão muito intensa ou intensa (Figura 1) (WHO, 2020). Os dados informados em 2021 revelam uma redução de 9,5% em relação ao ano anterior e 57% em relação a 2017. E apesar da incidência de LV nas Américas em 2021 ter sido de 2,19 casos por 100.000 habitantes, representando redução de 30% em relação à linha de base, a meta estabelecida pelo plano de ação do programa Global de Leishmaniose da OMS, de 2,17 casos por 100.000 habitantes, não foi atingida. Contudo, ao analisar separadamente o Brasil, observa-se que a meta foi alcançada passando de 4,53 para 2,26 (meta individual estabelecida de 2,27) (PAHO, 2022).

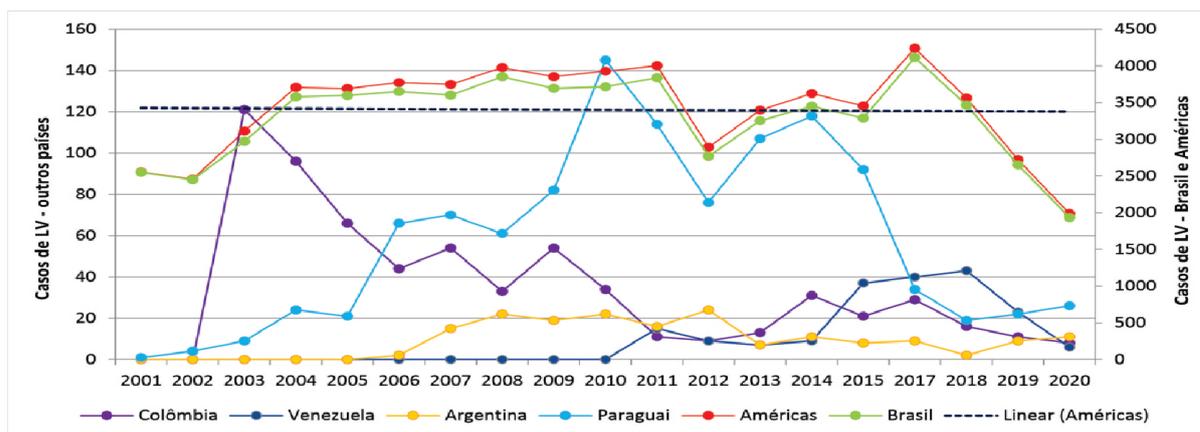


Figura 1- Casos de leishmaniose visceral, Região das Américas e sub-regiões, 2001-2020.

Nota: Região das Américas e Brasil no eixo direito; Argentina, Colômbia, Paraguai e Venezuela (República Bolivariana de) no eixo esquerdo

Fonte: OPAS, 2020.

Segundo dados do Ministério da Saúde a partir do Sistema de Informações Hospitalares do Sistema Único de Saúde (SIH/SUS) no período de janeiro de 2010 até dezembro de 2019 foram contabilizados um total de 24.257 internações por LV em toda a rede de assistência à saúde no país, com uma média de 2.425,7 casos por ano. O estudo detalhado a despeito dos casos clínicos de LV por região indica que ocorreram: 13.350 (55,03%) na região Nordeste, 4.662 (19,21%) na região Sudeste, 4.280 (17,64%) na região Norte, 1.903 (7,84%) na região Centro-Oeste e 62 (0,25%) na região Sul (Figura 2) (DE LIMA et al., 2021).

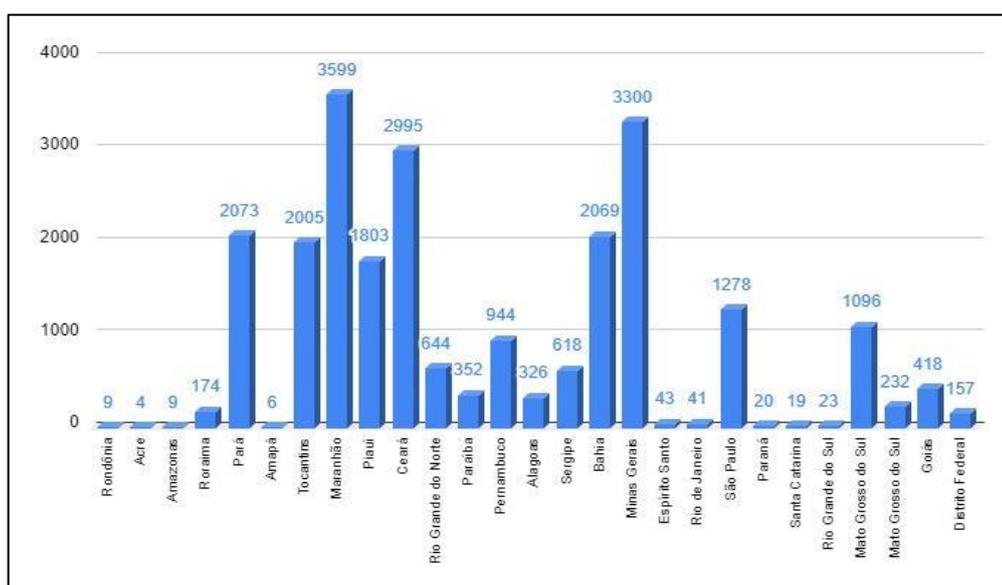


Figura 2 - Número de casos por unidade da federação no período de 2010 a 2019.

Fonte: SINAN.

No MS, a leishmaniose visceral é considerada endêmica, contribuindo consideravelmente na epidemiologia da mesma em âmbito nacional devido à associação das

mudanças na história natural da doença (ligadas à ecologia do vetor), à história dos reservatórios humanos e/ou animais e pela interferência antropogênica no contexto do meio ambiente (Figura 3) (FRIAS; BARBOSA; OLIVEIRA, 2022; ROSE NAKKOUH et al., 2022).

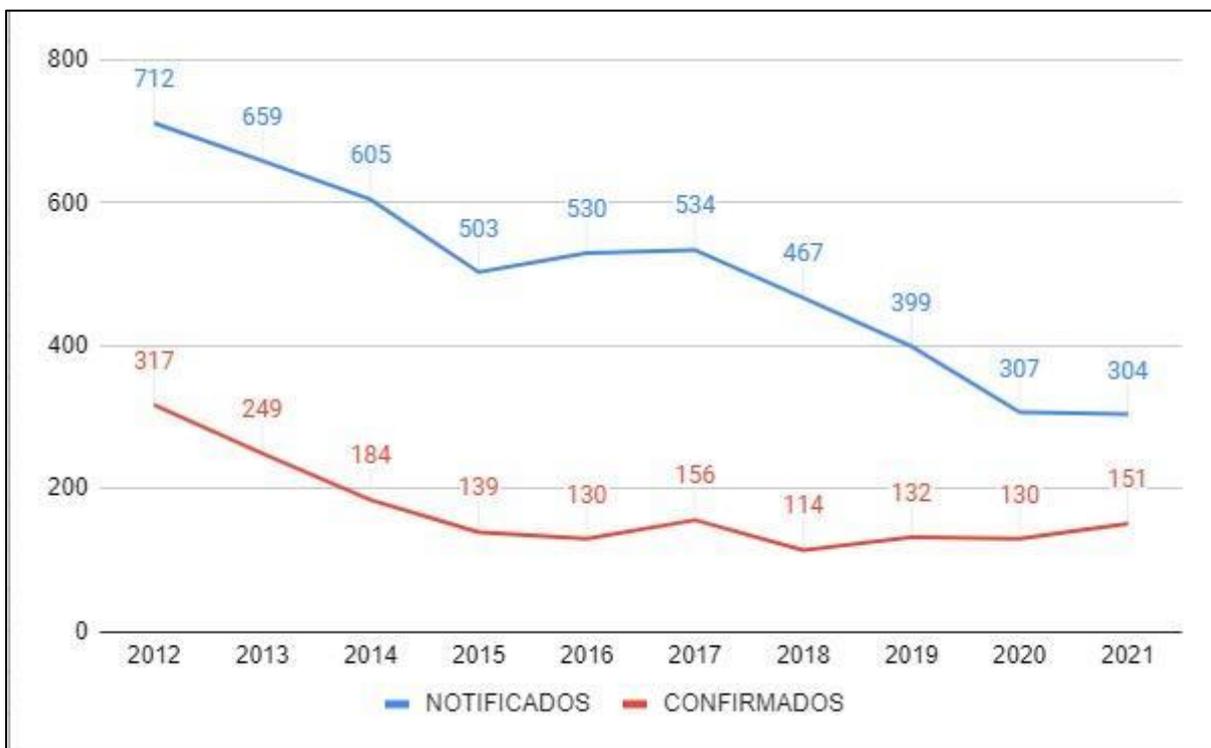


Figura 3- Casos de leishmaniose visceral notificados e confirmados no estado de Mato Grosso do Sul, 2012 a 2021.

Fonte: Sistema de Informações Hospitalares do Sistema Único de Saúde (SIH/SUS).

No período de 2012 a 2020 ao considerar o contexto dos 79 municípios do Mato Grosso do Sul é importante ressaltar que 39 apresentaram casos clínicos diagnosticados com uma taxa de transmissão de três naturezas (FRIAS; BARBOSA; OLIVEIRA, 2022): transmissão intensa: acima de 4,4 casos/ano - Campo Grande (74,67), Três Lagoas (10,67), Corumbá (9,67), Coxim (5,33) e Aquidauana (5,00); transmissão moderada: entre 2,4 e 4,4 casos/ano- Bataguassu (2,67) e Paranaíba (2,67) e transmissão esporádica: Abaixo de 2,4 casos/ano- Anastácio, Aparecida do Taboado e Rio Verde de Mato Grosso (2,00); Brasilândia, Jardim e Ladário (1,67); Dourados, Jaraguari, Ribas do Rio Pardo (1,33); Bela Vista, Ivinhema, Miranda, Sonora, Terenos (1,00); Maracaju, Porto Mourinho e Selvíria (0,67); Alcinópolis, Antônio João, Bodoquena, Bonito, Chapadão do Sul, Corguinho, Costa Rica, Guia Lopes da Laguna, Itaquiraí, Nioaque, Nova Alvorada do Sul, Pedro Gomes, Ponta Porã, Rio Negro e Sidrolândia (0,33).

Uma recente revisão sistemática avaliou a ocorrência da LV humana na região centro-oeste do Brasil apontando que, no cenário nacional, o Mato Grosso do Sul tem a maior

incidência dentre os estados da região centro-oeste (ÁVILA et al., 2023). Foram confirmados 151 casos no ano de 2021 e nesse período, o MS apresentou um importante aumento da taxa de letalidade (6,62) em comparação com o ano de 2020 (5,38). Quanto às características dos indivíduos mais acometidos com LV compreende homens com faixa etária entre 20 e 49 anos (FRIAS; BARBOSA; OLIVEIRA, 2022). Acrescenta-se que Ávila et al. (2023) em sua busca não encontrou estudos sobre fatores associados à LV humana realizados no Mato Grosso do Sul.

2.2. Epidemiologia das leishmanioses em áreas militares

A epidemiologia das leishmanioses na população militar é complexa devido ao movimento contínuo de tropas e remanejamentos e internos para diversas regiões do país. As características sociodemográficas que esta população possui, faz com que a realização de estudos que compreendam a distribuição das espécies de *Leishmania* e sua potencial associação com variáveis clínicas e demográficas seja necessária (CERBINO NETO; WERNECK; COSTA, 2009).

Observa-se que o uso de uniforme que cobre praticamente todo o corpo por durante todo o período de exposição, cuidado com higienização do ambiente, não permitindo acúmulo de matéria orgânica, cuidados com a saúde dos animais, corroboram para o controle da doença na área militar (DANTAS-TORRES et al., 2017; PATINO et al., 2017). No Brasil, na área militar de Bela vista (MS) foi relatado 9 casos de LT causada por *Leishmania amazonenses* (DORVAL et al., 2006), já em área militar de Pernambuco, 40 militares foram diagnosticados com LT causada por *L. brasiliensis* (DANTAS-TORRES et al., 2017), e trazem que os casos esporádicos de LT entre os militares estão associados a soldados ou outros militares que se envolvem com atividades noturnas no ambiente florestal.

Por outro lado, um estudo em área militar na Colômbia, observa-se a ocorrência de surtos de LT e outras doenças transmitidas por vetores na população do exército, justificado devido ao elevado número de pessoas que entram em áreas endêmicas com alta circulação do inseto vetor, que coincidem devido ao conflito armado no país, ao combate ao narcotráfico e ao garimpo ilegal (PATINO et al., 2017).

Por ser uma população vulnerável devido suas atividades ocupacionais (treinamentos em mata), a análise dessas áreas gera muito interesse de estudo principalmente quando se analisa em regiões não endêmicas, com casos autóctones escassos. O risco de infecção assintomática em viajantes saudáveis de áreas não endêmicas, como militares remanejados, é pouco compreendido. Embora casos de LT tenham sido descritos em soldados do Brasil que

atuam em área de mata (DANTAS-TORRES et al., 2017; DORVAL et al., 2006), a pesquisa de LV assintomática com *L. infantum* é pouco investigada. Nos EUA foram realizados vários estudos em militares que retornavam do Iraque sendo investigado a LV assintomática, embora imaginassem o risco, não esperavam encontrar 20% de positividade na coorte analisada. Ao Concluíram que mesmo os soldados infectados, foram avaliados clinicamente e considerados assintomáticos, devido à infecção intracelular persistente, existe uma ameaça potencial para futura reativação da LV nessa população (DE ARAUJO et al., 2023; MODY et al., 2019).

2.3. Flebotomíneo

Os flebotomíneos atuam efetivamente na transmissão de protozoários do gênero *Leishmania* spp., causadores das leishmanioses. No Brasil, estes são conhecidos popularmente como mosquito palha, tatuquira, cangalhinha e birigui (NEVES, 2016; WHO, 2020). Esses insetos surgiram há 250-300 milhões de anos e durante esse período ocorreram muitas mudanças, condicionando-os às variações morfológicas e adaptativas dos diversos ambientes (ANDRADE FILHO; GALATI; BRAZIL, 2009).

No Brasil, foram identificadas cerca de 297 espécies de flebotomíneos, das quais *Ny. whitmani*, *Ny. neivai*, *Nyssomya intermedia* (Lutz & Neiva, 1912), *Nyssomya umbratilis* (Ward & Fraiha, 1977), *Mi. migonei*, *Pi. pessoai*, *Bi. flaviscutellata*, *Pi. fischeri*, e *Psychodopygus wellcomei* (Fraiha, Shaw & Lainson, 1971) são as principais espécies vetores de *Leishmania* que causam a LT e no caso da LV foram identificadas *Lu. longipalpis* e *Lu. cruzi* (GALATI; RODRIGUES, 2023; ROCHA, 2018; SHIMABUKURO et al., 2023).

Embora as fêmeas de flebotomíneos infectados sejam os vetores estabelecidos e reconhecidos para a transmissão da *Leishmania*, tem havido um interesse renovado na investigação dos mecanismos secundários de transmissão. Dentre esses mecanismos, o potencial envolvimento de carrapatos (*Rhipicephalus sanguineus*) e pulgas (*Ctenocephalides felis*) têm sido discutido como vetores alternativos para a transmissão da *Leishmania infantum* em cães (COUTINHO et al., 2005).

Sustentando a hipótese de transmissão vetorial alternativa na população canina, amplamente debatida pela comunidade científica, foi realizada uma busca no Pubmed (descritores [(Leishmaniose) AND (Carrapatos)]) e foram encontrados 21 artigos, a maioria dos quais tratou da detecção do DNA de *Leishmania* em carrapatos e da provável participação do carrapato na transmissão da leishmaniose em cães e gatos em diversas regiões do Brasil (COUTINHO et al., 2005; DANTAS-TORRES, 2011; DANTAS-TORRES et al., 2010; DANTAS-TORRES; FIGUEREDO; BRANDÃO-FILHO, 2006; MEDEIROS-SILVA et al.,

2015; VIOL et al., 2016) e até mesmo em outros países (MAGRI et al., 2022; RAKHSHANPOUR et al., 2017). Os autores propõem ainda que, na ausência de flebotomíneos, a transmissão poderia envolver indiretamente outros artrópodes, como carrapatos, por meio de picadas, cópula ou ingestão de vísceras contaminadas.

Pesquisas indicaram a presença de promastigotas de *L. infantum* em meios de cultura após cultivo de glândulas salivares e intestinais de *R. sanguineus* coletadas de cães com leishmaniose visceral canina (LVC) (MEDEIROS-SILVA et al., 2015). Além disso, DNA e promastigotas de *Leishmania* spp. foram identificados em glândulas salivares de carrapatos retirados de cães soropositivos (VIOL et al., 2016). Rakhshanpour et al. (2017) demonstraram a suscetibilidade dos carrapatos à infecção por *Leishmania*, mas não conseguiram confirmar seu papel como vetores.

A presença de DNA *Leishmania* spp. em carrapatos coletados de cães com anticorpos anti-*Leishmania* levanta a questão de uma possível transmissão através de picadas de carrapatos ou ingestão de carrapatos infectados (COELHO; BRESCIANI, 2013). Um estudo recente realizado na Itália detectou DNA de *Leishmania* em carrapatos *Ixodes ricinus*. Embora o papel dos carrapatos no ciclo silvestre da LV seja considerado menor, ele deve ser mais investigado e não pode ser excluído, particularmente nas áreas endêmicas específicas (MAGRI et al., 2022).

2.3.1. Fauna de flebotomíneos no Mato Grosso do Sul

No Mato Grosso do Sul, os casos de leishmanioses (principalmente a LV) tem se expandido para um número maior de municípios devido a degradação do meio ambiente, o movimento migratório rural-urbano, desorganização do espaço urbano, aumento da densidade demográfica, geração de uma maior quantidade de resíduos sólidos e o destino inadequado de material de lixo seja este doméstico, empresarial ou hospitalar (BRASIL, 2014; FERNANDES, 2021).

Estudo entomológico executado no MS através de coleta de dados primários e secundários comprovou que a fauna de flebotomíneos é composta por 71 espécies, distribuídas em 14 gêneros com registros confirmados em 61 dos 79 municípios (BARRIOS et al., 2020). Ressalta-se a presença de 12 espécies de vetores comprovados e suspeitos na transmissão do patógeno da *Leishmania*: *Lu. longipalpis*, *Lu. cruzi*, *Lutzomyia forattinii* (Galati, Rego, Nunes & Teruya, 1985), *Lutzomyia almerioi* (Galati & Nunes, 1999), *Ny. whitmani*, *Ny.intermedia*, *Ny neivai*, *Nyssomyia antunesi* (Coutinho, 1939), *Bi. flaviscutellata*, *Mi.migonei*, *Pi.fischeri* e *Pi. pessoai* (NEITZKE-ABREU et al., 2022).

A análise da fauna flebotomínica do MS é bastante estudada (ALMEIDA et al., 2010, 2015; BARRIOS et al., 2020; BRILHANTE et al., 2015; DE ALMEIDA et al., 2019; DE ANDRADE et al., 2014; DE PITA-PEREIRA et al., 2008; DUTRA-RÊGO et al., 2023; FALCÃO DE OLIVEIRA et al., 2016; FERNANDES, 2021; GALATI et al., 1996, 2003; LIMA-JUNIOR et al., 2021; NASCIMENTO et al., 2007; NEITZKE-ABREU et al., 2022a, 2022b; OLIVEIRA et al., 2012, 2003; SANTOS, 2010), sendo apresentado na tabela 3 um resumo das espécies encontradas em Dourados e Nova Andradina.

Tabela 3 – Distribuição das espécies de flebotomíneos encontradas em Dourados e Nova Andradina estado do Mato Grosso do Sul (MS)

Espécies	Dourados	Nova Andradina
<i>Bichromomyia flaviscutellata</i> ¹	x	
<i>Brumptomyia avellari</i>	x	x
<i>Brumptomyia brumpti</i>	x	x
<i>Brumptomyia cunhai</i>	x	
<i>Brumptomyia galindoi</i>	x	
<i>Brumptomyia pintoii</i>	x	x
<i>Evandromyia carmelinoi</i>		x
<i>Evandromyia cortelezzi</i>	x	x
<i>Evandromyia evandroi</i>	x	
<i>Evandromyia lenti</i>	x	x
<i>Evandromyia sallesi</i>		x
<i>Evandromyia teratodes</i>	x	x
<i>Evandromyia termitophila</i>	x	x
<i>Lutzomyia longipalpis</i> ²	x	
<i>Micropygomyia acanthopharynx</i>	x	
<i>Micropygomyia longipennis</i>	x	
<i>Migonemyia migonei</i> ¹	x	
<i>Nyssomyia antunesi</i>	x	
<i>Nyssomyia intermedia</i>		x
<i>Nyssomyia neivai</i> ¹	x	x
<i>Nyssomyia whitmani</i> ¹	x	x
<i>Pintomyia christenseni</i>	x	x
<i>Pintomyia fischeri</i>	x	x
<i>Pintomyia mamedei</i>	x	
<i>Pintomyia misionensis</i>	x	
<i>Pintomyia monticola</i>	x	x
<i>Pintomyia pessoai</i>	x	x
<i>Psathyromyia aragaoi</i>	x	
<i>Psathyromyia bigeniculata</i>	x	x
<i>Psathyromyia campograndensis</i>	x	x
<i>Psathyromyia hermanlenti</i>	x	
<i>Psathyromyia lanei</i>	x	
<i>Psathyromyia punctigeniculata</i>	x	x
<i>Sciopemya sordellii</i>	x	x

¹ espécies vetoras de *Leishmania* na manifestação cutânea. ² espécies vetoras de *L. infantum*. x indica presença da espécie.

2.3.2. A influência do ambiente sobre a população de flebotomíneos

O aumento anual de casos clínicos das doenças negligenciadas em território brasileiro, incluindo-se aqui as leishmanioses, está relacionado principalmente à vulnerabilidade do ser humano, baixas condições socioeconômicas das populações e intervenções desregradas da dinâmica ambiental. Ressalta-se que a efetiva e diária execução das perturbações no contexto do meio ambiente parecem favorecer tanto o estabelecimento quanto o aumento na densidade dos insetos vetores (FERNANDES, 2021; RIBEIRO; ALESSIO JUNIOR; ALESSIO, 2022).

As ações antropogênicas nocivas ao meio ambiente impactam diretamente a biodiversidade dos flebotomíneos, isto devido à pressão executada no ambiente por ações antropogênicas que interferem diretamente na comunidade de diversos táxons, favorecendo a sobrevivência de algumas poucas espécies e o posterior desaparecimento daquelas que não se adaptam às novas condições locais (DE SOUZA FERNANDES et al., 2022; OLIVEIRA, 2017).

Atitudes do ser humano na execução de suas atividades socioeconômicas como, uso extensivo e sem manejo adequado da terra, o desmatamento acelerado, a construção de novas rodovias; acúmulo de lixo doméstico e a poluição ambiental cotidiana interferem em todo o habitat natural bem como na estrutura de reprodução dos flebotomíneos. A restrição do ambiente de onde vivem estes vetores, promovem o deslocamento e a exploração de novos locais reprodutivos, invadindo assim o ambiente doméstico, principalmente as áreas de peridomicílio (REBÊLO et al., 2019).

Além dos fatores ambientais, sociais, econômicos e demográficos relatados anteriormente, os fatores climáticos como temperatura, velocidade do vento, umidade e chuvas afetam diretamente a distribuição dos flebotomíneos e sua atividade (PARHAM et al., 2015). Seus efeitos dependem da região, clima e espécies analisadas. Em Corumbá (MS) um estudo investigou possíveis associações entre as espécies mais abundantes e variáveis ambientais relacionadas à vegetação e ao clima, mostrando que exemplares de *Lu. cruzi* foram os mais abundantes sendo encontrados em todos os meses de coleta incluindo estações secas e chuvosas (FALCÃO DE OLIVEIRA et al., 2016). Um recente estudo realizado na área urbana de Dourados evidenciou a presença de *Lu. longipalps* em todas as localidades analisadas (peridomicílio e áreas de mata) e em todos os meses de coleta, com abundância nas estações chuvosas. Sua presença foi associada com vegetação nativa verdejante, matéria orgânica em

decomposição, presença de gado, alta pluviosidade e umidade relativa (LIMA-JUNIOR et al., 2021).

2.4. Reservatórios/Hospedeiros vertebrados

A interação reservatório-parasito é considerada como um sistema complexo, na medida em que detém um caráter multifatorial, imprevisível e de natureza dinâmica por formar uma unidade biológica que pode estar em constante mudança devido a influência das alterações do meio ambiente por ações humanas impensadas e desregradas (BRASIL, 2017).

Devido à multiplicidade das espécies dos agentes etiológicos, os reservatórios das leishmanias incluem uma ampla variedade de vertebrados, principalmente animais silvestres bem como também animais domésticos. No tocante dos mamíferos das ordens *Didelphimorphia*, *Pilosa*, *Cingulata*, *Rodentia*, *Carnivora*, *Primata* e *Chiroptera* apresentam-se como espécies comprovadas ou suspeitas de participarem como reservatórios das leishmanias (BRASIL, 2017; ROQUE; JANSEN, 2014).

As espécies responsáveis pela transmissão da LT apresentam como reservatórios hospedeiros tanto espécies silvestres quanto sinantrópicas como preguiças, tamanduás, marsupiais, edentados, quirópteros e canídeos silvestres, principalmente roedores (BRASIL, 2017). Para *L. amazonensis*, destaca-se roedores de dois gêneros: *Proechimys* e *Oryzomys*; enquanto para *L. guyanensis* têm sido apontadas como reservatórios: preguiças do gênero *Choloepus*, tamanduás do gênero *Tamandua* e gambás do gênero *Didelphis*. Apesar da *L. braziliensis* uma lista maior de reservatórios tem sido descrita destacando-se principalmente roedores (ROQUE et al., 2010), porém inclui também animais peridomésticos como equinos (*Equus*) e animais domésticos como cães (*Canis lupus familiaris*) e gatos (*Felis catus*) podem atuar como hospedeiros acidentais (GALVIS OVALLOS et al., 2020).

Para os agentes etiológicos da LV, os cães domésticos se apresentam como o principal reservatório de *Le. infantum*, sendo fonte de infecção aos vetores e fator de risco para a ocorrência de casos em humanos. No entanto, o papel epidemiológico de outros animais domésticos, como gatos, ainda precisa ser mais bem elucidado e comprovado cientificamente. As raposas das espécies *Cerdocyon thous* e *Dusicyum vetulus* podem atuar como reservatórios silvestres do parasito, enquanto o papel epidemiológico dos gambás, incluindo as espécies *Didelphis marsupialis*, *D. albiventris* e *D. aurita*, necessita de mais esclarecimentos quanto sua atuação como hospedeiro primitivo da LV (FRIAS; BARBOSA; OLIVEIRA, 2022; GALVIS OVALLOS et al., 2020).

Alguns estudos sugerem que os cavalos podem ser usados como fonte alimentar para *Lu. longipalpis*, mesmo que não de forma preferencial, mostrando que frequentemente esses animais podem ser isca para os flebotomíneos, sugerindo a necessidade de investigar esta espécie como um possível reservatório ou hospedeiro acidental (MISSAWA; LOROSA; DIAS, 2008; OLIVEIRA-PEREIRA et al., 2008; PRADELLA et al., 2020). Apesar do seu potencial na transmissão das leishmanioses, o seu papel natural ainda não foi demonstrado e o impacto desses animais no ciclo epidemiológico das leishmanioses permanece incerto (OLIVEIRA-PEREIRA et al., 2008).

Em estudos feitos sobre a proliferação de flebotomíneos e disseminação das leishmanioses foi evidenciado que os galinheiros, quando bem iluminados e distantes do domicílio, podem ser atrativos aos insetos. Isto poderia ajudar a reduzir a presença de flebotomíneos no peridomicílio e intradomicílio, por outro lado, aumentam o risco de transmissão por servirem como criadouro, principalmente devido ao acúmulo de matéria orgânica, umidade, especialmente se tiverem baixa iluminação (CELLA et al., 2011; TEODORO et al., 2007).

2.5. Diagnóstico laboratorial

Na presença de lesões sugestivas de LT, o diagnóstico engloba critérios clínicos, epidemiológicos e laboratoriais. A aplicação de métodos de diagnóstico laboratorial busca não somente à confirmação dos achados clínicos, mas também o fornecimento de importantes informações de natureza epidemiológica, sendo os dados sobre a identificação da espécie de *Leishmania* circulante essencial para a orientação quanto às medidas a serem adotadas para o controle do agravo (BRASIL, 2017; FRIAS; BARBOSA; OLIVEIRA, 2022).

O diagnóstico laboratorial da LT engloba três grupos de exames: exames imunológicos como Intradermorreação de Montenegro e sorologia para pesquisa de anticorpos; exames parasitológicos para demonstração direta do parasito; isolamento em cultivo *in vitro* em meios de cultivo; Isolamento *in vivo* em animais de experimentação; reação em cadeia da polimerase (PCR) e exames histopatológicos (BRASIL, 2017).

A LV tem sua confirmação diagnóstica centrada na combinação da história clínica do paciente e nos aspectos epidemiológicos; entretanto, o conglomerado sintomatológico da LV é inespecífico e semelhante a outras patologias, sendo necessária a execução de exames complementares para o estabelecimento do diagnóstico diferencial dentre as suspeitas patológicas elencadas pela equipe médica (ARTHUSO ROCHA et al., 2021). A assertividade do diagnóstico da LV deve vincular os seguintes métodos clínicos: parasitológico (avaliação da

presença das formas amastigotas do parasito em material biológico obtido preferencialmente da medula óssea); sorológicos e imunológico (representados principalmente por ELISA e imunofluorescência indireta) e exames de natureza inespecífica como hemograma e dosagem de proteínas (ARTHUSO ROCHA et al., 2021; FRIAS; BARBOSA; OLIVEIRA, 2022). E ainda diagnósticos baseados em ácidos nucleicos como a PCR que é o método mais sensível para detectar a presença de parasitas em amostras clínicas (ADAMS et al., 2018; KHAN et al., 2012). Portanto, o diagnóstico rápido e preciso de LV é importante para que os pacientes recebam tratamento imediato, determinem a cura ou uma indicação de recaída (SINGH et al., 2016).

2.6. Medidas de prevenção e controle das leishmanioses

O Ministério da Saúde considera que as estratégias efetivas de controle da leishmaniose centralizam-se na redução da: incidência, mortalidade, letalidade e no grau de morbidade; entretanto é importante reafirmar que quaisquer atitudes preventivas e ou de controle da mesma envolvem componentes individuais e coletivos decorrendo de uma atuação significativa de toda a sociedade (BRASIL, 2014, 2017).

Todo o planejamento e a implementação de políticas públicas para o controle da leishmaniose devem considerar a diminuição das desigualdades sociais como ponto chave, isto porque grande parte da população brasileira vive em condições precárias de saneamento básico e dificuldade no acesso pleno e efetivo aos serviços de saúde (RIBEIRO et al., 2021). Neste sentido, as principais estratégias objetivando a redução dos casos clínicos das leishmanioses devem ser centralizadas em três pilares: precocidade diagnóstica, manejo eficaz do paciente e a sensibilização dos indivíduos da sociedade (independente de raça, cor, orientação sexual e patrimônio econômico (WHO, 2021; WIJERATHNA et al., 2017).

Wijerathna et al. (2017) analisou vários fatores de risco para leishmanioses e entre os fatores paisagísticos, a presença ou ausência de lixo em decomposição, cupinzeiros, áreas pouco claras, áreas com solo úmido e áreas de jardinagem diferiram significativamente entre os grupos caso e controle evidenciando que a presença de lixo em decomposição aumenta em quatro vezes o risco de infecção.

Assim adoção de medidas de proteção (conscientização do uso de repelente e roupas adequadas) e de medidas ambientais como, preservação do meio ambiente, com presença de vegetação nativa, manutenção dos locais em que os animais ficam alojados e circulam, são fatores importantes para o controle e disseminação das leishmanioses, por inviabilizar a migração do flebotômico, impedindo a proliferação de *Leishmania* spp. no ambiente urbano

para as áreas de ocupação do homem e animais domésticos (COSTA et al., 2005; RIBEIRO et al., 2013; WHO, 2010). Além das atividades de sobre medidas de proteção (conscientização do uso de repelente e roupas adequadas) e melhoria das condições ambientais (reflorestamento, saneamento básico e higienização) ao implementar as principais atividades de controle, como controle de vetores, controle de hospedeiros de reservatórios (detecção precoce e tratamento e administração preventiva de imunomoduladores) e gestão eficaz de casos (identificação de assintomáticos e tratamento adequado) (FRIAS; BARBOSA; OLIVEIRA, 2022; SANTOS et al., 2022).

Toda e quaisquer ações de controle da leishmaniose (independente da tipologia) a serem executadas por órgãos municipais e estaduais buscam: proteção da população como um todo, controle de vetores e dos reservatórios, manejo ambiental e desenvolvimento de práticas de educação em saúde; destaca-se as seguintes as ferramentas de prevenção e controle da leishmaniose (FRIAS; BARBOSA; OLIVEIRA, 2022); Inquérito entomológico objetivando: conhecer, capturar e identificar os flebótomos; Realização de borrifação de inseticida nas áreas de riscos (áreas com elevado número de casos, principalmente em municípios de transmissão intensa (índice de transmissibilidade média de acima de 4,4) e moderada (acima de 2,4) ou em surto; Estudo e controle da ação dos vetores e dos reservatórios; Compreensão sobre a ecologia comportamental das populações de flebotomíneos: visando executar a quebra da cadeia de transmissão.

3. OBJETIVOS

GERAL

Realizar investigação entomológica, epidemiológica, sorológica e molecular das leishmanioses nos potenciais hospedeiros animais, humanos e vetores em duas regiões de mata nativa do Mato Grosso do Sul.

ESPECÍFICOS

1. Avaliar o envolvimento do carrapato num caso humano de leishmaniose tegumentar em região de mata nativa de Nova Andradina Relatar;
2. Estudar a composição da fauna flebotomínica das áreas de mata nativa de Dourados e de Nova Andradina;

3. Investigar detecção de DNA de *Leishmania* spp. em flebotomíneos nas regiões estudadas (Dourados e Nova Andradina);
4. Investigar possíveis hospedeiros humanos na área militar de Dourados, levando em consideração os fatores demográficos (faixa etária, sexo) e ocupacionais (tempo de permanência, transferências, contato com animais);
5. Analisar possíveis hospedeiros animais (cães e cavalos) que habitam a área militar de Dourados, quanto ao estado de saúde;
6. Pesquisar DNA de *Leishmania* spp. em hospedeiros vertebrados (humanos e animais) na área militar de Dourados.

4. REFERÊNCIAS

ADAMS, E. R. et al. Development and Evaluation of a Novel Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay for Diagnosis of Cutaneous and Visceral Leishmaniasis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 56, n. 7, jul. 2018.

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

ALMEIDA, P. S. DE et al. Geographic distribution of phlebotomine sandfly species (Diptera: Psychodidae) in Central-West Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 4, p. 551–559, 26 maio 2015.

ALVAR, J. et al. Canine Leishmaniasis. Em: [s.l.: s.n.]. p. 1–88.

ALVAR, J. et al. Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence. **PLoS ONE**, v. 7, n. 5, p. e35671, 31 maio 2012.

ANDRADE FILHO, J. D.; GALATI, E. A. B.; BRAZIL, R. P. Review of American Fossil Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) With a Description of Two New Species. **Journal of Medical Entomology**, v. 46, n. 5, p. 969–979, 1 set. 2009.

ARTHUSO ROCHA, G. et al. Differential laboratory diagnosis of cutaneous and visceral leishmaniasis. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research-BJSCR BJSCR**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://www.mastereditora.com.br/bjscr>>.

ÁVILA, I. R. et al. Occurrence of human visceral leishmaniasis in the Central-West region of Brazil: A systematic review. **Acta Tropica**, v. 237, p. 106707, jan. 2023.

BANU, S. S. et al. Detection of *Leishmania donovani* in peripheral blood of asymptomatic individuals in contact with patients with visceral leishmaniasis. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 110, n. 5, p. 286–293, 19 maio 2016.

- BARRIOS, S. P. G. et al. Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) and Biomes in the State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 57, n. 6, p. 1882–1904, 13 nov. 2020.
- BRASIL, M. DA S. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília - DF: [s.n.]. Disponível em: <https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmaniose_visceral_1edicao.pdf>. Acesso em: 27 fev. 2023.
- BRASIL, M. DA S. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana**. Brasília: [s.n.]. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_leishmaniose_tegumentar.pdf>. Acesso em: 26 fev. 2023.
- BRILHANTE, A. F. et al. Phlebotomine fauna (Diptera: Psychodidae) in an area of fishing tourism in central-western Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 57, n. 3, p. 233–238, jun. 2015.
- CELLA, W. et al. Flebotomíneos de localidades rurais no noroeste do Estado do Paraná, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 27, n. 12, p. 2461–2468, dez. 2011.
- CERBINO NETO, J.; WERNECK, G. L.; COSTA, C. H. N. Factors associated with the incidence of urban visceral leishmaniasis: an ecological study in Teresina, Piauí State, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 25, n. 7, p. 1543–1551, jul. 2009.
- COELHO, W. M. D.; BRESCIANI, K. D. S. Molecular and parasitological detection of *Leishmania* spp. in a dipteran of the species *Tabanus importunus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, n. 4, p. 605–607, dez. 2013.
- COSTA, C. H. N. et al. Household structure and urban services: neglected targets in the control of visceral leishmaniasis. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 99, n. 3, p. 229–236, 18 abr. 2005.
- COUTINHO, M. T. Z. et al. Participation of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in the epidemiology of canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, v. 128, n. 1–2, p. 149–155, mar. 2005.
- DANTAS-TORRES, F. et al. Detection of *Leishmania infantum* in *Rhipicephalus sanguineus* ticks from Brazil and Italy. **Parasitology Research**, v. 106, n. 4, p. 857–860, 3 mar. 2010.
- DANTAS-TORRES, F. Ticks as vectors of *Leishmania* parasites. **Trends in Parasitology**, v. 27, n. 4, p. 155–159, abr. 2011.
- DANTAS-TORRES, F. et al. Sand fly population dynamics and cutaneous leishmaniasis among soldiers in an Atlantic forest remnant in northeastern Brazil. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 2, p. e0005406, 27 fev. 2017.
- DANTAS-TORRES, F.; FIGUEREDO, L. A.; BRANDÃO-FILHO, S. P. *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae), the brown dog tick, parasitizing humans in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 1, p. 64–67, fev. 2006.
- DE ALMEIDA, P. S. et al. Phlebotomine (Diptera: Psychodidae) fauna in a cavern containing cave paintings and its surrounding environment, Central-West Brazil. **Acta Tropica**, v. 199, p. 105151, nov. 2019.

- DE ANDRADE, A. R. O. et al. Spatial distribution and environmental factors associated to phlebotomine fauna in a border area of transmission of visceral leishmaniasis in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Parasites & Vectors**, v. 7, n. 1, p. 260, 2014.
- DE ARAUJO, F. F. et al. Potential Biomarkers for Asymptomatic Visceral Leishmaniasis among Iraq-Deployed U.S. Military Personnel. **Pathogens**, v. 12, n. 5, p. 705, 12 maio 2023.
- DE LIMA, R. G. et al. Perfil epidemiológico da leishmaniose visceral no Brasil, no período de 2010 a 2019. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 13, n. 4, p. e6931, 13 abr. 2021.
- DE PITA-PEREIRA, D. et al. 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. **Acta Tropica**, v. 107, n. 1, p. 66–69, 2008.
- DE SOUZA FERNANDES, W. et al. Phlebotomine Sandfly (Diptera: Psychodidae) Fauna and The Association Between Climatic Variables and The Abundance of *Lutzomyia longipalpis* sensu lato in an Intense Transmission Area for Visceral Leishmaniasis in Central Western Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 59, n. 3, p. 997–1007, 11 maio 2022.
- DORVAL, M. E. M. C. et al. Ocorrência de leishmaniose tegumentar americana no Estado do Mato Grosso do Sul associada à infecção por *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 1, p. 43–46, fev. 2006.
- DUTRA-RÊGO, F. et al. Molecular detection of *Leishmania* and blood meal analysis in sand flies from Corumbá, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Acta Tropica**, v. 245, p. 106961, set. 2023.
- FALCÃO DE OLIVEIRA, E. et al. Monthly Distribution of Phlebotomine Sand Flies, and Biotic and Abiotic Factors Related to Their Abundance, in an Urban Area to Which Visceral Leishmaniasis Is Endemic in Corumbá, Brazil. **PLOS ONE**, v. 11, n. 10, p. e0165155, 26 out. 2016.
- FERNANDES, W. DE S. **Distribuição Espaço-Temporal de Flebotomíneos e da Leishmaniose Visceral em Área de Transmissão Intensa Campo Grande, MS, Brasil**. Tese (Doutorado em Doenças Infecciosas e Parasitárias). Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande. p 141. 2021.
- FRIAS, D. F. R.; BARBOSA, K. F.; OLIVEIRA, R. O. DE. Boletim epidemiológico Leishmaniose Visceral Humana. **Vigilância epidemiológica do Mato Grosso do Sul**, 2022.
- GALATI, E. A. B. et al. Estudo dos flebotomíneos (Diptera, Psychodidae), em área de leishmaniose tegumentar, no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 30, n. 2, p. 115–128, abr. 1996.
- GALATI, E. A. B. et al. Phlebotomines (Diptera, Psychodidae) in caves of the Serra da Bodoquena, Mato Grosso do Sul State, Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 47, n. 2, p. 283–296, 2003.
- GALATI, E. A. B.; RODRIGUES, B. L. A Review of Historical Phlebotominae Taxonomy (Diptera: Psychodidae). **Neotropical Entomology**, 10 mar. 2023.

GALVIS OVALLOS, F. et al. Leishmanioses no Brasil: Aspectos epidemiológicos, desafios e perspectivas. Em: **Atualidades em medicina tropical no Brasil: protozoários**. [s.l.] Stricto Sensu, 2020.

GALVIS-OVALLOS, F. et al. Detection of *Pintomyia fischeri* (Diptera: Psychodidae) With *Leishmania infantum* (Trypanosomatida: Trypanosomatidae) Promastigotes in a Focus of Visceral Leishmaniasis in Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 58, n. 2, p. 830–836, 12 mar. 2021.

GOMES, M. E. M. S. A.; FERREIRA, E. P. P. LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA NO BRASIL: ANÁLISE DE 2010 A 2019. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 8, n. 5, p. 1086–1096, 31 maio 2022.

KHAN, M. G. M. et al. Diagnostic accuracy of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for detection of *Leishmania* DNA in buffy coat from visceral leishmaniasis patients. **Parasites & Vectors**, v. 5, n. 1, p. 280, 3 dez. 2012.

LIMA, A. A. et al. Caracterização epidemiológica da leishmaniose tegumentar americana no estado de Alagoas nos anos de 2008 a 2018. **Diversitas Journal**, v. 6, n. 3, p. 3268–3280, 2021.

LIMA-JUNIOR, M. S. DA C. et al. Sand Fly Fauna, Spatial Distribution of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae), and Climate Factors in Dourados, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 58, n. 4, p. 1952–1957, 16 jul. 2021.

LÓPEZ-FUERTES, L. et al. *Leishmania* Infection: Laboratory Diagnosing in the Absence of a “Gold Standard”. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 82, n. 2, p. 251–256, 1 fev. 2010.

MAGRI, A. et al. Detection of *Leishmania* sp. kDNA in questing *Ixodes ricinus* (Acari, Ixodidae) from the Emilia-Romagna Region in northeastern Italy. **Parasitology Research**, v. 121, n. 11, p. 3331–3336, 9 nov. 2022.

MEDEIROS-SILVA, V. et al. Successful isolation of *Leishmania infantum* from *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Acari: Ixodidae) collected from naturally infected dogs. **BMC Veterinary Research**, v. 11, n. 1, p. 258, 9 dez. 2015.

MISSAWA, N. A.; LOROSA, E. S.; DIAS, E. S. Preferência alimentar de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) em área de transmissão de leishmaniose visceral em Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 4, p. 365–368, ago. 2008.

MODY, R. M. et al. Asymptomatic Visceral *Leishmania infantum* Infection in US Soldiers Deployed to Iraq. **Clinical Infectious Diseases**, v. 68, n. 12, p. 2036–2044, 30 maio 2019.

MOKNI, M. Leishmanioses cutanées. **Annales de Dermatologie et de Vénérologie**, v. 146, n. 3, p. 232–246, mar. 2019.

NASCIMENTO, J. C. DO et al. Natural infection of phlebotomines (Diptera: Psychodidae) in a visceral-leishmaniasis focus in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 49, n. 2, p. 119–122, abr. 2007.

NEITZKE-ABREU, H. C. et al. Geographic distribution of human leishmaniasis and phlebotomine sand flies in the State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Parasites & Vectors**, v. 15, n. 1, p. 227, 24 dez. 2022a.

NEITZKE-ABREU, H. C. et al. Geographic distribution of human leishmaniasis and phlebotomine sand flies in the State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Parasites & Vectors**, v. 15, n. 1, p. 227, 24 dez. 2022b.

NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**. 13. ed. São Paulo: [s.n.]. v. 1

OLIVEIRA, A. G. et al. Ecological Aspects of Phlebotomines (Diptera: Psychodidae) in Endemic Area of Visceral Leishmaniasis, Campo Grande, State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 49, n. 1, p. 43–50, 1 jan. 2012.

OLIVEIRA, A. G. DE et al. Estudo de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) na zona urbana da cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil, 1999-2000. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, n. 4, p. 933–944, ago. 2003.

OLIVEIRA, T. F. DE. **Análise espaço-temporal da leishmaniose visceral humana no estado de Mato Grosso do Sul**. Dissertação - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande. 2017.

OLIVEIRA-PEREIRA, Y. N. et al. Preferência alimentar sanguínea de flebotomíneos da Amazônia do Maranhão, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 24, n. 9, p. 2183–2186, 2008.

PAHO, P. A. H. O. **Leishmaniose: Relatório Epidemiológico para as Américas**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://iris.paho.org/handle/10665.2/56832>>. Acesso em: 7 jul. 2023.

PARHAM, P. E. et al. Climate, environmental and socio-economic change: weighing up the balance in vector-borne disease transmission. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 370, n. 1665, p. 20130551, 5 abr. 2015.

PATINO, L. H. et al. Spatial distribution, *Leishmania* species and clinical traits of Cutaneous Leishmaniasis cases in the Colombian army. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 8, p. e0005876, 29 ago. 2017.

PRADELLA, G. D. et al. Identification of *Leishmania* spp. in horses and a dog from rural areas of Uruguaiana, Rio Grande do Sul, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 41, n. 6, p. 2687–2694, 19 set. 2020.

QUINNELL, R. J.; COURTENAY, O. Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis. **Parasitology**, v. 136, n. 14, p. 1915–1934, 16 dez. 2009.

RAKSHANPOUR, A. et al. Transmission of *Leishmania infantum* by *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in Dogs. **Iranian journal of parasitology**, v. 12, n. 4, p. 482–489, 2017.

READY, P. Epidemiology of visceral leishmaniasis. **Clinical Epidemiology**, p. 147, maio 2014.

REBÊLO, J. M. M. et al. Influence of Deforestation on the Community Structure of Sand Flies (Diptera: Psychodidae) in Eastern Amazonia. **Journal of Medical Entomology**, v. 56, n. 4, p. 1004–1012, 27 jun. 2019.

REINHOLD-CASTRO, K. R. et al. Avaliação de medidas de controle de flebotomíneos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 3, p. 269–276, jun. 2008.

RIBEIRO, C. J. N. et al. Space-time risk cluster of visceral leishmaniasis in Brazilian endemic region with high social vulnerability: An ecological time series study. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 1, p. e0009006, 19 jan. 2021.

RIBEIRO, M. P.; ALESSIO JUNIOR, L. E.; ALESSIO, A. M. Perfil epidemiológico da leishmaniose visceral humana no estado do Mato Grosso, Brasil - 2010 a 2020. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 12, p. e68111234114, 7 set. 2022.

RIBEIRO, V. M. et al. Control of visceral leishmaniasis in Brazil: recommendations from Brasileish. **Parasites & Vectors**, v. 6, n. 1, p. 8, 11 dez. 2013.

ROCHA, L. **Tudo sobre os flebotomíneos do Brasil**. Disponível em: <<https://portal.fiocruz.br/noticia/tudo-sobre-os-flebotomineos-do-brasil>>. Acesso em: 26 fev. 2023.

ROQUE, A. L. R. et al. *Thrichomys laurentius* (Rodentia; Echimyidae) as a Putative Reservoir of *Leishmania infantum* and *L. braziliensis*: Patterns of Experimental Infection. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 4, n. 2, p. e589, 2 fev. 2010.

ROQUE, A. L. R.; JANSEN, A. M. Wild and synanthropic reservoirs of *Leishmania* species in the Americas. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 3, n. 3, p. 251–262, dez. 2014.

ROSE NAKKOUND, J. et al. Um Olhar para as Populações de Ectoparasitas em Cães com Leishmaniose Visceral Canina (LVC) em Mato Grosso do Sul – Potenciais Vetores de Transmissão para essa Doença. **Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde**, v. 26, n. 1, p. 43–47, 30 mar. 2022.

SANTOS, K. M. DOS. **Biodiversidade de Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) na aldeia indígena Jaguapiru, Dourados, Mato Grosso do Sul, 2008 – 2009: Implicações epidemiológicas**. Dissertação. Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados. 2010.

SANTOS, G. R. DE A. C. et al. Perfil epidemiológico dos casos de leishmaniose tegumentar americana no Brasil. **Enfermagem em Foco**, v. 12, n. 5, 31 mar. 2022.

SANTOS SOUSA, F. et al. Revisão dos Aspectos Epidemiológicos e Parasitários da Leishmaniose no Brasil. **RBD Science**, v. 1, n. 1, 2022.

SANTOS, W. S. et al. Flebotomíneos (Psychodidae: Phlebotominae) de área endêmica para leishmaniose cutânea e visceral no nordeste do estado do Pará, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 10, n. 0, nov. 2019.

SHIMABUKURO PHF, ANDRADE AJ, GALATI EAB 2023. Phlebotominae in Catálogo Taxonômico da Fauna do Brasil. PNUD. Disponível em: <<http://fauna.jbrj.gov.br/fauna/faunadobrasil/3297>>. Acesso em: 01 Ago 2023.

SILVA JUNIOR, S. V. DA et al. Qualidade de vida relacionada à saúde de pessoas com Leishmaniose Tegumentar Americana. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v. 22, 31 dez. 2020.

SINAN. **Leishmaniose visceral - casos confirmados notificados - Mato Grosso do Sul no Sistema de Informação de Agravos de Notificação**-. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sinannet/cnv/leishvms.def>>. Acesso em: 5 jul. 2023.

SINGH, O. P. et al. Elimination of visceral leishmaniasis on the Indian subcontinent. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 16, n. 12, p. e304–e309, dez. 2016.

TEODORO, U. et al. Luz e galinhas como fatores de atração de *Nyssomyia whitmani* em ambiente rural, Paraná, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 41, n. 3, p. 383–388, jun. 2007.

VIOL, M. A. et al. Identification of *Leishmania* spp. promastigotes in the intestines, ovaries, and salivary glands of *Rhipicephalus sanguineus* actively infesting dogs. **Parasitology Research**, v. 115, n. 9, p. 3479–3484, 12 set. 2016.

WERNECK, G. L.; HASSELMANN, M. H.; GOUVÊA, T. G. Panorama dos estudos sobre nutrição e doenças negligenciadas no Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 16, n. 1, p. 39–62, jan. 2011.

WHO. Control of the leishmaniasis. **World Health Organization technical report series**, n. 949, p. xii–xiii, 1–186, back cover, 2010.

WHO. **Fichas Técnicas Leishmanioses**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>>. Acesso em: 26 fev. 2023.

WHO. **Leishmaniasis**. Disponível em: <https://www.who.int/health-topics/leishmaniasis#tab=tab_1>. Acesso em: 26 fev. 2023.

WIJERATHNA, T. et al. Potential Challenges of Controlling Leishmaniasis in Sri Lanka at a Disease Outbreak. **BioMed Research International**, v. 2017, p. 1–9, 2017.

5. APÊNDICES

Tabela 4: Apresentação de artigo/manuscritos conforme alcance dos objetivos específicos propostos

Artigo/Manuscritos	Objetivos específicos
Artigo 1: Ocorrência de leishmaniose tegumentar em prévia picada de carrapato: um relato de caso.	1
Manuscrito 2: Fauna and DNA detection of <i>Leishmania</i> spp. in sand flies from Nova Andradina, Mato Grosso do Sul, Brazil.	2 e 3
Manuscrito 3: Characterization of sandfly fauna and potential hosts of <i>Leishmania</i> in a military area of Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil	2, 3, 4, 5 e 6

1 **Artigo 1: Aceito na “Interbio” (Qualis B2)**

2 <https://www.unigran.br/dourados/interbio/normas.php>

3
4 **Ocorrência de leishmaniose tegumentar em prévia picada de carrapato: um relato de**
5 **caso**

6
7 **Occurrence of tegumentary leishmaniasis in a previous tick bite: a case report**
8

9
10 Iara Beatriz Andrade de Sousa^{1,2}, Kamily Fagundes Pussi¹, Walderson Zuza Barbosa¹, Juliane Barbosa Pessoa¹,
11 Jhoy Alves Leite³, Manoel Sebastião da Costa Lima Junior⁴, Herintha Coeto Neitzke-Abreu^{1,5}.

12
13 ¹ Universidade Federal da Grande Dourados, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Dourados,
14 Mato Grosso do Sul, Brasil.

15 ² Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares (EBSERH), Hospital Universitário da Universidade Federal da
16 Grande Dourados, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

17 ³ Centro de Controle de Zoonoses (CCZ), Nova Andradina, Mato Grosso do Sul, Brasil.

18 ⁴ Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Instituto Aggeu Magalhães (IAM), Laboratório de Imunopatologia e
19 Biologia Molecular, Recife, Pernambuco, Brasil.

20 ⁵ Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências da Saúde, Dourados, Mato Grosso do Sul,
21 Brasil.

22
23 *Autor correspondente: Iara Beatriz Andrade de Sousa. E-mail: iara.doutoradoufgd@gmail.com
24

25 **Resumo**

26 Neste relato, descreve-se o caso de um indivíduo do sexo masculino, que relata ter sido picado
27 por um carrapato na mão e após a sua remoção, no exato ponto surgiu uma lesão. O paciente
28 foi submetido à biópsia da lesão que evidenciou a presença de formas sugestivas de amastigotas
29 de *Leishmania* e na análise de PCR houve detecção do DNA de *Leishmania* spp. Após o
30 tratamento com Antimoniato de Meglumina observou-se cicatrização completa da lesão. A
31 hipótese sobre a participação do carrapato no ciclo da LTA não pode ser confirmada, porém,
32 sugere-se que sejam realizadas pesquisas adicionais para avaliar a possível participação do
33 carrapato na transmissão da *Leishmania* para o hospedeiro vertebrado.
34

35 **Palavras-chaves:** Leishmaniose. Vetor. Lesão.

Abstract

In this report, we describe the case of a male individual, who reports having been bitten by a tick on his hand and after its removal, an injury appeared at the exact point. The patient was submitted to a biopsy of the lesion, which showed the presence of forms suggestive of *Leishmania* amastigotes and the PCR analysis showed detection of *Leishmania* spp DNA. After treatment with Meglumine Antimoniate, complete healing of the lesion was observed. The hypothesis about the tick's participation in the ATL cycle cannot be confirmed, however, it is suggested that additional research be carried out to evaluate the possible participation of the tick in the transmission of *Leishmania* to the vertebrate host.

Keywords: Leishmaniasis. Vectors. Transmission.

Introdução

A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) é uma doença parasitária causada por protozoários do gênero *Leishmania*. No Brasil, os agentes etiológicos predominantes são *Leishmania (Viannia) braziliensis* e *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, que podem causar lesões cutâneas e/ou mucosas (GOMES; FERREIRA, 2022). Entre 2010 e 2020, um total de 202.652 casos de LTA foram notificados no Brasil, colocando o país entre as regiões com maior incidência anual da doença. Além disso, apresenta casos autóctones em todos os estados, com diferentes padrões de transmissão, justificado pelas modificações socioambientais sofridas ao longo dos anos (GOMES; FERREIRA, 2022).

Embora as fêmeas de flebotomíneos infectados sejam os vetores estabelecidos e reconhecidos para a transmissão da *Leishmania*, tem havido um interesse renovado na investigação dos mecanismos secundários de transmissão. Dentre esses mecanismos, o potencial envolvimento de carrapatos como vetores alternativos para a transmissão da *Leishmania infantum* em cães (COUTINHO *et al.*, 2005) tem sido discutido nos últimos anos³.

Sustentando a hipótese de transmissão vetorial alternativa na população canina, amplamente debatida pela comunidade científica, foi realizada uma busca no Pubmed (descritores [(Leishmaniose) AND (Carrapatos)]) e foram encontrados 21 artigos, a maioria dos quais tratou da detecção da leishmania em carrapatos, a provável participação do carrapato na transmissão da leishmaniose em cães e gatos em diversas regiões do Brasil (COUTINHO *et al.*, 2005; DANTAS-TORRES, 2011; MEDEIROS-SILVA *et al.*, 2015; VIOL *et al.*, 2016) e até mesmo em outros países (MAGRI *et al.*, 2022; RAKHSHANPOUR *et al.*, 2017). Os autores propõem ainda que, na ausência de flebotomíneos, a transmissão poderia envolver

70 indiretamente outros artrópodes, como carrapatos, por meio de picadas, cópula ou ingestão de
71 vísceras contaminadas. Até onde sabemos, apenas um estudo na África relatou um caso de
72 contaminação humana por LTA e febre rickettsial causada por picada de carrapato africano
73 simultaneamente (SCHWARTZ *et al.*, 2012).

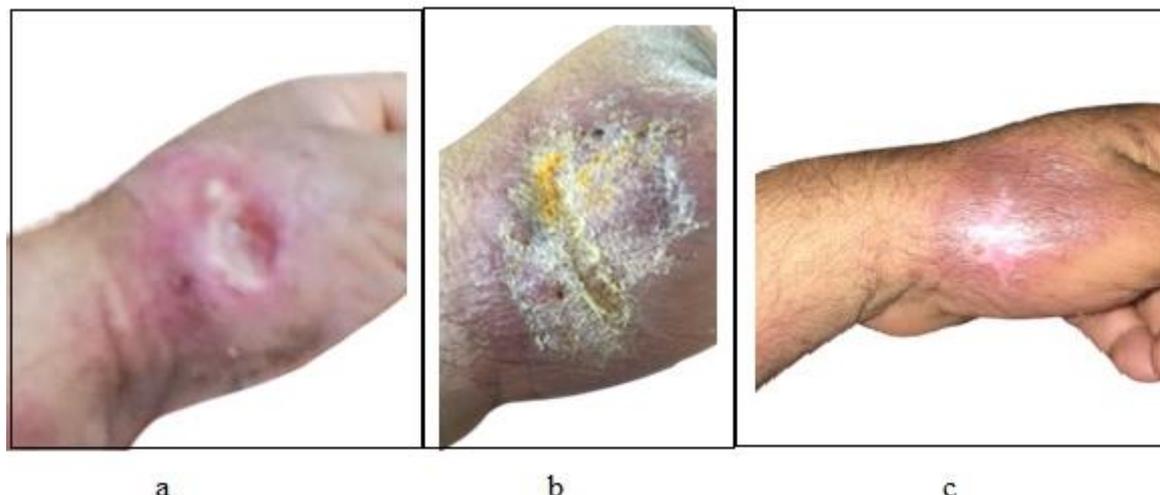
74 Com base nessas hipóteses, pode-se deduzir que nosso conhecimento científico atual
75 sobre a epidemiologia e o papel de vetores alternativos na transmissão da leishmaniose ainda
76 está em seus estágios iniciais, faltando evidências substanciais para avaliar minuciosamente o
77 significado epidemiológico desses mecanismos de transmissão em humanos (DANTAS-
78 TORRES, 2011). Portanto, o objetivo deste relato é apresentar um caso em que uma lesão
79 característica de LTA surgiu justamente no local de uma picada prévia de carrapato.

80

81 **Relato de caso**

82 Indivíduo do sexo masculino, 41 anos, trabalhador e residente na área rural do município
83 de Nova Andradina, localizada na mesorregião do Leste do Mato Grosso do Sul. Relatou que,
84 em um dia de trabalho, avistou um carrapato na mão esquerda e imediatamente removeu-o.
85 Alguns dias depois identificou uma lesão indolor na mão, no mesmo local da picada, que
86 aumentou gradualmente de tamanho, tornando-se uma úlcera (**Figura 1A**). Procurou
87 atendimento médico no Centro de Especialidade Médica de Nova Andradina, onde foi realizado
88 biópsia da lesão. Ao exame anatomopatológico, o achado foi de dermatite crônica
89 linfocitocitária intersticial acentuada associada a detecção de estruturas ovoides sugestivas
90 para amastigota de *Leishmania* spp. (**Figura 2**). O material da biópsia foi encaminhado para o
91 Laboratório de Pesquisa em Ciências da Saúde da Universidade Federal da Grande Dourados
92 (UFGD) e foi realizada a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) com os primers 13A e 13B,
93 que identificou o DNA de *Leishmania* spp. Mediante aos achados laboratoriais, as
94 manifestações clínicas e as alterações histopatológicas estabeleceram-se o diagnóstico de LTA.
95 Devido ao fato de o indivíduo trabalhar e residir em município endêmico para LTA,
96 inicialmente foi realizada pesquisa do vetor na residência, mas não foi encontrado e 3 meses
97 depois iniciamos a coleta próximo à mata, que foi encontrado presença de vetores
98 (flebotomíneos) com detecção de DNA de *Leishmania* spp. (comunicação pessoal). Foi
99 instituído tratamento com Antimoniato de Meglumina (60 ampolas), uma vez ao dia (três
100 ampolas + 250 mL de soro fisiológico 0.9% via endovenosa) por 21 dias consecutivos,
101 conforme recomendação do Ministério da Saúde. Após o tratamento, a lesão diminuiu
102 gradativamente até completa cicatrização (**Figura 1B-C**).

103 O paciente assinou o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e o Termo de
 104 autorização para uso de imagens para fotos. Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética
 105 em Pesquisa da UFGD (CAAE: 3.214.315).



106

107 **Figura 1.** Mão esquerda mostrando a lesão formada no local da picada do carrapato.

108 **Legenda:** a - Lesão inicial após a picada do carrapato. b- Lesão durante o tratamento. c- Lesão cicatrizada após
 109 o tratamento.

110

111 **Discussão**

112 Mato Grosso do Sul é um estado endêmico para LTA, sendo os flebotomíneos do gênero
 113 *Lutzomyia* a principal via de transmissão. No entanto, em vários municípios do estado, já foram
 114 identificadas espécies conhecidas como transmissoras de *Leishmania braziliensis*, agente
 115 causador da LTA. Essas espécies incluem *Nyssomyia neivai*, *Nyssomyia whitmani*,
 116 *Bichoromyia flaviscutellata*, *Pintomyia pessoai*, *Pintomyia fisheri* e *Migonemyia migonei*
 117 (BARRIOS *et al.*, 2020; NEITZKE-ABREU *et al.*, 2022). No município de Nova Andradina
 118 ocorre transmissão esporádica de LTA, sendo encontradas quatro espécies vetoras: *Ny. neivai*,
 119 *Ny. Whitmani*, *Pi. pessoai* e *Pi. fisheri*. Entre estes, *Ny. neivai* é considerada a principal espécie
 120 responsável pela transmissão da LTA (NEITZKE-ABREU *et al.*, 2022).

121 Enquanto o vetor primário para *L. braziliensis* é a fêmea do flebotomíneo, vetores
 122 alternativos como carrapatos (*Rhipicephalus sanguineus*) e pulgas (*Ctenocephalides felis*) têm
 123 sido discutidos (COUTINHO *et al.*, 2005). *R. sanguineus*, comumente conhecido como
 124 carrapato marrom, é altamente prevalente entre cães urbanos e conhecido por transmitir vários
 125 patógenos como *Ehrlichia canis* e *Babesia canis*. Embora faltem evidências conclusivas sobre
 126 a capacidade dos carrapatos de transmitir *Leishmania*, estudos sugerem uma possível
 127 associação entre *R. sanguineus* e a epidemiologia da Leishmaniose Visceral Canina (LVC)
 128 (COUTINHO *et al.*, 2005; OLIVEIRA; ALVES; SILVA JUNIOR, 2015).

129 Pesquisas indicaram a presença de promastigotas de *L. infantum* em meios de cultura
130 após cultivo de glândulas salivares e intestinais de *R. sanguineus* coletadas de cães com LVC
131 (MEDEIROS-SILVA *et al.*, 2015). Além disso, DNA e promastigotas de *Leishmania* spp.
132 foram identificados em glândulas salivares de carrapatos retirados de cães soropositivos (VIOL
133 *et al.*, 2016). Rakhshanpour *et al.* (2017) demonstraram a suscetibilidade dos carrapatos à
134 infecção por *Leishmania*, mas não conseguiram confirmar seu papel como vetores.

135 A avaliação do crescimento, multiplicação e transmissão transtadial do parasito em
136 carrapatos não foi realizada, mas a presença de *Leishmania* spp. O DNA em carrapatos
137 coletados de cães com anticorpos para *Leishmania* levanta a questão de uma possível
138 transmissão através de picadas de carrapatos ou ingestão de carrapatos infectados (COELHO;
139 BRESCIANI, 2013).

140 Um estudo recente realizado na Itália detectou DNA de *Leishmania* em carrapatos
141 *Ixodes ricinus*. Embora o papel dos carrapatos no ciclo silvestre da leishmaniose seja
142 considerado menor, ele deve ser mais investigado e não pode ser excluído, particularmente nas
143 áreas endêmicas específicas em estudo (MAGRI *et al.*, 2022).

144 A hipótese de os carrapatos atuarem como vetores da *Leishmania* vem sendo discutida
145 há algum tempo (DANTAS-TORRES, 2011). No entanto, ao analisar uma série de estudos que
146 investigaram a capacidade e competência vetorial de carrapatos, foram identificados limitações
147 e vieses quanto à seleção da amostra, período de coleta, tipos de análise e métodos diagnósticos
148 disponíveis. Como resultado, as deficiências metodológicas desses estudos reduzem a
149 confiabilidade da interpretação dos dados, mas não descartam completamente a hipótese do
150 envolvimento do carrapato no ciclo de transmissão da leishmaniose (DANTAS-TORRES,
151 2011).

152 Além disso, deve-se levar em consideração a afinidade limitada dos carrapatos pelos
153 humanos. Mesmo que pesquisas futuras estabeleçam os carrapatos como potenciais vetores de
154 *L. infantum* em cães, a transmissão para humanos ainda permaneceria incerta. Os estudos
155 publicados sobre este tópico não fornecem evidências claras sobre se os carrapatos podem
156 sustentar o ciclo de vida natural da *Leishmania* em áreas endêmicas por longos períodos na
157 ausência de flebotomíneos (DANTAS-TORRES, 2011; DANTAS-TORRES; FIGUEREDO;
158 BRANDÃO-FILHO, 2006).

159 O paciente relatou atividades frequentes de pesca em uma área da fazenda onde foram
160 instaladas armadilhas para flebotomíneos, e foi confirmada a presença de flebotomíneos,
161 incluindo DNA de *Leishmania* com taxa de positividade de 0,1% (comunicação pessoal). Isso

162 está de acordo com a observação geral no Brasil, onde a concentração de casos de LTA é maior
163 na população masculina (GOMES; FERREIRA, 2022).

164 Considerando os detalhes apresentados neste relato de caso, a detecção de *Leishmania*
165 spp. na lesão confirma o diagnóstico de LTA. No entanto, é impossível determinar se a picada
166 do flebotomíneo ocorreu antes ou depois da picada do carrapato. Portanto, a hipótese do
167 envolvimento do carrapato no ciclo da LTA não pode ser confirmada. Mais pesquisas são
168 recomendadas para investigar se a *Leishmania* pode sobreviver, replicar e se desenvolver em
169 uma forma infecciosa para o hospedeiro vertebrado dentro do intestino do carrapato.

170

171 **Conflito de Interesses**

172 Não há conflito de interesses a declarar.

173

174 **Contribuições dos Autores**

175 IBAS contribuiu com a pesquisa bibliográfica, análise e interpretação de dados e redação do
176 trabalho; KFP contribuiu com coleta de dados, exames laboratoriais e análise de dados; WZB
177 e JBP contribuíram com coleta e análise de dados; JAL, MSCLJ e HCNA contribuíram com a
178 coleta, análise e redação e aprovação final da versão a ser aprovada.

179

180 **Apoio Financeiro**

181 Não houve

182

183 **Referências**

184 BARRIOS, Suellem Petilim Gomes *et al.* *Phlebotominae* (Diptera: *Psychodidae*) and Biomes
185 in the State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, [s. l.], v. 57, n.
186 6, p. 1882–1904, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jme/tjaa127>.

187 COELHO, Willian Marinho Dourado; BRESCIANI, Katia Denise Saraiva. Molecular and
188 parasitological detection of *Leishmania* spp. in a dipteran of the species *Tabanus importunus*.
189 **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, [s. l.], v. 22, n. 4, p. 605–607, 2013.

190 COUTINHO, Maria Teresa Zanatta *et al.* Participation of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari:
191 *Ixodidae*) in the epidemiology of canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, [s.
192 l.], v. 128, n. 1–2, p. 149–155, 2005.

193 DANTAS-TORRES, Filipe. Ticks as vectors of *Leishmania* parasites. **Trends in**
194 **Parasitology**, [s. l.], v. 27, n. 4, p. 155–159, 2011.

195 DANTAS-TORRES, Filipe; FIGUEREDO, Luciana Aguiar; BRANDÃO-FILHO, Sinval
196 Pinto. *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: *Ixodidae*), the brown dog tick, parasitizing humans
197 in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [s. l.], v. 39, n. 1, p. 64–
198 67, 2006.

- 199 GOMES, Maria Eduarda Martins Santos Alves; FERREIRA, Erica Pontes Pereira.
200 LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA NO BRASIL: ANÁLISE DE 2010 A
201 2019. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, [s. l.], v. 8, n. 5,
202 p. 1086–1096, 2022. Disponível em: <https://periodicorease.pro.br/rease/article/view/5332>.
- 203 MAGRI, Alice *et al.* Detection of *Leishmania* sp. kDNA in questing *Ixodes ricinus* (Acari,
204 *Ixodidae*) from the Emilia-Romagna Region in northeastern Italy. **Parasitology Research**, [s.
205 l.], v. 121, n. 11, p. 3331–3336, 2022.
- 206 MEDEIROS-SILVA, Viviane *et al.* Successful isolation of *Leishmania infantum* from
207 *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Acari: *Ixodidae*) collected from naturally infected dogs.
208 **BMC Veterinary Research**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 258, 2015.
- 209 NEITZKE-ABREU, Herintha Coeto *et al.* Geographic distribution of human leishmaniasis
210 and phlebotomine sand flies in the State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Parasites & Vectors**,
211 [s. l.], v. 15, n. 1, p. 227, 2022.
- 212 OLIVEIRA, Vinícius Vasconcelos Gomes de; ALVES, Leucio Câmara; SILVA JUNIOR,
213 Valdemiro Amaro da. Transmission routes of visceral leishmaniasis in mammals. **Ciência**
214 **Rural**, [s. l.], v. 45, n. 9, p. 1622–1628, 2015.
- 215 RAKHSHANPOUR, Alaleh *et al.* Transmission of *Leishmania infantum* by *Rhipicephalus*
216 *sanguineus* (Acari: *Ixodidae*) in Dogs. **Iranian journal of parasitology**, [s. l.], v. 12, n. 4, p.
217 482–489, 2017.
- 218 SCHWARTZ, Robert A. *et al.* Cutaneous leishmaniasis and rickettsial African tick-bite fever:
219 a combination of exotic traveler’s diseases in the same patient. **International Journal of**
220 **Dermatology**, [s. l.], v. 51, n. 8, p. 960–963, 2012.
- 221 VIOL, Milena Araújo *et al.* Identification of *Leishmania* spp. promastigotes in the intestines,
222 ovaries, and salivary glands of *Rhipicephalus sanguineus* actively infesting dogs.
223 **Parasitology Research**, [s. l.], v. 115, n. 9, p. 3479–3484, 2016.