

Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Priscilla Elias Ferreira da Silva

**LEVANTAMENTO DA FAUNA DE FLEBOTOMÍNEOS E DOS ASPECTOS  
AMBIENTAIS NO MUNICÍPIO DE UBERABA-MG, ÁREA SEM CASOS DE  
LEISHMANIOSE VISCERAL**

Uberaba

2023

Priscilla Elias Ferreira da Silva

**LEVANTAMENTO DA FAUNA DE FLEBOTOMÍNEOS E DOS ASPECTOS  
AMBIENTAIS NO MUNICÍPIO DE UBERABA-MG, ÁREA SEM CASOS DE  
LEISHMANIOSE VISCERAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Infectologia, área de concentração Parasitologia e Imunologia Aplicadas, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Ciências – Parasitologia e Imunologia Aplicadas.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Luciana de Almeida Silva  
Teixeira

Coorientador: Prof. Dr. Edelberto Santos Dias

Uberaba

2023

**Catálogo na fonte: Biblioteca da Universidade Federal do  
Triângulo Mineiro**

S5821 Silva, Priscilla Elias Ferreira da  
Levantamento da fauna de flebotomíneos e dos aspectos ambientais no município de Uberaba-MG, área sem casos de leishmaniose visceral / Priscilla Elias Ferreira da Silva. -- 2023.  
122 f. : il., fig., graf., tab.

Tese (Doutorado em Medicina Tropical e Infectologia) -- Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2023  
Orientadora: Profa. Dra. Luciana de Almeida Silva Teixeira  
Coorientador: Prof. Dr. Edelberto Santos Dias

1. Leishmaniose visceral. 2. Ecoepidemiologia. 3. Psychodidae. I. Uberaba (MG). 1. Teixeira, Luciana de Almeida Silva. II. Universidade Federal do Triângulo Mineiro. III. Título.

CDU 616.993.161

Priscilla Elias Ferreira da Silva

LEVANTAMENTO DA FAUNA DE FLEBOTOMÍNEOS E DOS ASPECTOS AMBIENTAIS  
NO MUNICÍPIO DE UBERABA-MG, ÁREA SEM CASOS DE LEISHMANIOSE VISCERAL

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em  
Medicina Tropical e Infectologia, área de  
concentração Parasitologia e Imunologia Aplicadas,  
da Universidade Federal do Triângulo Mineiro,  
como requisito parcial para obtenção do título de  
Doutora em Ciências – Parasitologia e Imunologia  
Aplicadas.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Luciana de Almeida Silva  
Teixeira

Coorientador: Prof. Dr. Edelberto Santos Dias

\_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

Banca Examinadora:

\_\_\_\_\_  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Luciana de Almeida Silva Teixeira – Orientadora  
Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM)

\_\_\_\_\_  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Rafaella Albuquerque e Silva  
Ministério da Saúde

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Tiago Zankêta de Souza  
Universidade de Uberaba (UNIUBE)

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Marcos Vinicius da Silva  
Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM)

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Luís Gustavo da Conceição Galego  
Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM)

Dedico esta tese aos meus amados pais Carlos e Elza, que, mesmo com os percalços da vida, nunca mediram esforços para educar-me e ajudar-me a tornar a mulher que sou hoje.

## AGRADECIMENTOS

Ao senhor da vida, que me orienta e ampara diariamente para que eu nunca desista dos meus objetivos e sempre persista no que eu realmente acredito.

A mim, pela resiliência, pela coragem e por não ter desistido do meu sonho inicial: ser professora. Jamais me esquecerei de minha origem e do legado dos meus pais.

À minha família, especialmente aos meus pais Elza e Carlos, por mostrarem os caminhos e me deixarem livre na escolha; foram inúmeros os momentos de incerteza e vocês estiveram ao meu lado em todos eles. À minha irmã Camila, meu porto seguro, fonte de luz inesgotável, a mulher mais corajosa que já conheci. Saiba que é uma honra ser a sua irmã, confidente, alma-gêmea e ainda tê-la como professora de Português-Espanhol, revisora exclusiva dos meus trabalhos! Ao meu irmão José Carlos, pelo carinho, respeito e apoio nos momentos de aflição, seguimos com a frase que nos define “Os irmãos Elias e seus laços inabaláveis”. Ao meu padrasto José Maurício por todo apoio e carinho na minha trajetória acadêmica.

Ao meu namorado, José Eduardo, por mostrar todos os dias que o amor é possível e pode ser vivido de maneira leve, sem complicações. Honro a sua presença em minha vida, obrigada por tudo.

À minha orientadora professora doutora Luciana de Almeida Silva Teixeira, por acreditar em mim, orientar meu trabalho e mostrar os caminhos para o seguimento de minha carreira. Posso dizer que mais que uma aluna de doutorado, essa trajetória de seis anos nos tornou grandes amigas e me fez admirá-la ainda mais. Nunca terei palavras suficientes para agradecê-la. Nossos laços estarão sempre conectados pessoal e profissionalmente. A minha autonomia acadêmica veio de seus ensinamentos; um legado do professor Aluizio Rosa Prata para nossas vidas.

Ao meu coorientador, professor doutor Edelberto Santos Dias, sempre disposto, paciente e muito atencioso. Agradeço a oportunidade de abrir as portas do laboratório e centro de referência em competência vetorial de flebotomíneos do Instituto de Pesquisas René Rachou – Fiocruz Minas – e ensinar as peculiaridades da família Psychodidae. Gratidão por ter me encaminhado para o curso com a doutora Eunice Bianchi Galati, na Faculdade de Saúde Pública – USP/SP. Jamais me esquecerei dessa oportunidade. Aproveito o ensejo para agradecer toda a equipe do Centro de Referência em Competência Vetorial de Flebotomíneos (CRCVF), que me recebeu com tanto carinho: Érika Michalsky, Fabiana Lara, Nathália, Dâmaris, Ana Cotta, Lívia, Carol e Greice.

Agradecimento especial à professora doutora Eunice Bianchi Galati, pelo conhecimento compartilhado, pelo carinho e pela disposição em me ensinar sobre a fauna de flebotomíneos das Américas, durante a realização do curso “Bio-ecologia e Identificação de Phlebotominae”.

Agradeço também a aprendizagem com os amigos presentes no curso Márcia Bicudo, Laura Posada, Leonardo, Fredy Ovallos, João Paulo, Bruno, Israel Pinto, Enrique Szelag e, em especial, Linda Teles.

Ao professor doutor Aluizio Rosa Prata, que, mesmo não tendo a oportunidade de conhecê-lo pessoalmente, sinto profunda gratidão pelas intuições em todos os momentos da Pós-Graduação, desde a minha preparação para apresentar meus seminários até as pesquisas realizadas em campo.

Aos professores do Curso de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Infectologia, por me transmitirem todo conhecimento intelectual necessário para minha formação acadêmica. Agradecimento afetuoso ao professor doutor Marcos Vinicius da Silva pelas oportunidades de trabalhos colaborativos, apoio e empréstimo de materiais e trocas de experiências em sala de aula. Sou grata por todo suporte durante esses seis anos de trabalho.

Agradecimento especial ao professor doutor Virmondes Rodrigues Júnior, pelos ensinamentos e pelo engajamento no decorrer da minha pesquisa e também pelo apoio financeiro concedido na compra das baterias e dos carregadores para as armadilhas. Foi por meio do seu apoio e carinho que o nosso trabalho pôde ser realizado em Uberaba.

Aos professores doutores Fernando Lourenço e Catarina Teixeira, que sempre mantiveram abertas as portas do ICENE, acolhendo-me, envolvendo-me nos projetos e nas bancas, estreitando cada vez mais nossos laços acadêmicos e afetivos.

Agradeço aos queridos parceiros Thalita Tabata e professor doutor Leandro de Godoi Pinton pelo apoio e atenção disponibilizada durante as tramitações do meu projeto de doutorado e delineamento dos procedimentos metodológicos.

Aos amigos servidores, em especial à grande amiga Sílvia Coelho, por sempre me acolher nos momentos de incerteza com muito afeto e atenção; Clever, Marcelo, Wellington, Célia, Leonardo e Bruno, exímios profissionais, gratidão por todo suporte a mim prestado durante o doutorado, sempre com carinho e gentileza.

Aos amigos membros dos laboratórios de Parasitologia e Imunologia e de todos os setores da UFTM, que me acolheram de forma ímpar tanto no empréstimo de materiais como no uso das salas de microscopia.

Aos alunos do curso de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Infectologia das áreas de concentração Imunologia e Parasitologia Aplicadas e Clínica das Doenças Infecciosas e Parasitárias, gratidão pela ajuda concedida nos momentos de dificuldades.

Às companheiras de pesquisa de campo Julia Roriz e Beatriz Sodré, agradeço a parceria e o envolvimento com a nossa pesquisa de campo. Foram 12 meses de aprendizagem e de inúmeras aventuras! Sentirei saudades!

Agradeço, especialmente, aos amigos que fiz durante a graduação na UFTM e que me apoiam diariamente na Pós-Graduação: Taciane Pejón, Betânia, Larissa, Ana Manuela e Amanda.

Agradeço, carinhosamente, a Rhanoica Oliveira Guerra, um presente da UFTM que levarei por toda vida. Obrigada, por estar comigo nesses últimos três anos de curso, acolhendo-me nos momentos de incerteza e me envolvendo em outros projetos, apresentando os maravilhosos amigos científicos José Rodrigues e Pablo. *Você tem o dom de realizar, amiga!*

Agradecimento caloroso à amiga Juliana Madeira por acreditar em mim, socorrer-me nas situações complicadas e não medir esforços para me auxiliar. Eterna amiga que o Mestrado me presenteou.

Agradeço, com o coração cheio de alegrias, aos amigos que fiz durante a Pós-Graduação e que me auxiliaram em todos os sentidos dentro e fora da UFTM: Anne Koenig, Malu Mateus, Roberto Augusto, Loren Quéli, Nicole Zanzarini, Maria Julia Granero, Bruna Antunes, Thaís Farnesi, Fernanda Helmo e Thaís Rocha. Tudo ficou mais leve com a presença de vocês. *“Eu poderia suportar, embora não sem dor que tivessem morrido todos os meus amores, mas enlouqueceria se morressem todos os meus amigos (Vinicius de Moraes)”*.

Agradecimento especial à Prefeitura Municipal de Uberaba e aos profissionais das Unidades Básicas de Saúde de Santa Rosa, Serrinha e Santa Fé. Agradeço carinhosa e saudosamente também aos queridos motoristas que me levaram aos trajetos de trabalho de forma cuidadosa e afetuosa: Ivan, Edinei e Marcos Renato.

Aos moradores de todos os bairros visitados, que gentilmente nos receberam e aceitaram participar da pesquisa. Muitos laços foram fortalecidos e possuo imenso respeito e gratidão a todos vocês. Espero que possamos nos reencontrar em breve!

Aos profissionais Lara, Diogo Barros, Eduardo, Edson, Patrícia e Michel do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) – Prefeitura Municipal de Uberaba (PMU), pelo apoio logístico durante a realização dos trabalhos de campo. Sem o apoio do CCZ, certamente parte deste trabalho não poderia ser concretizado.

À Superintendência Regional de Saúde de Uberaba e a Coordenaria de Epidemiologia pela concessão das armadilhas utilizadas durante a captura sistematizada. Agradecimento especial aos pesquisadores José Maria de Sales, Denise Maciel Carvalho, Jocimar Jerônimo e Janaína Lacerda.

Aos professores doutores Érika Michalsky Monteiro e Rhainer Guillermo Ferreira, que aceitaram participar da banca de qualificação e contribuíram com sugestões valiosas para a conclusão desta tese.

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio financeiro a mim concedido durante quatro anos de pesquisa (Bolsa de estudos).

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo financiamento do projeto “Otimização do diagnóstico precoce e do manejo de indivíduos com leishmaniose visceral em áreas endêmicas com diferentes perfis de transmissão e endemicidade”, nº. do projeto APQ-01608-16.

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo financiamento da compra de baterias e carregadores para utilização das armadilhas de isca luminosa. Edital Rede Mineira, processo: REDE 0313-16.

“A vontade, mais que a inteligência, destina-se a nossos conselhos; porque temos a convicção de que aquela é tão educável quanto esta, e cremos ademais que toda grande obra, na Arte como na Ciência, é o resultado de uma grande paixão posta a serviço de uma grande ideia.”

Santiago. Ramon y Cabral, 1993.

## RESUMO

**Introdução:** Consideradas como um grande problema de saúde pública e pertencente às doenças tropicais negligenciadas, as leishmanioses configuram-se em um desafio antigo para os sistemas de saúde do mundo todo, dada sua ampla distribuição geográfica e capacidade de acometer populações em situações de vulnerabilidade socioeconômica. Ao compreender a extensão do problema Leishmaniose Visceral (LV) no Brasil e a sua franca expansão, torna-se premente a realização de investigações em áreas acometidas pela doença, para o fortalecimento de medidas que visem a redução do número de casos no país e evitem a sua propagação em áreas sem transmissão, como o município de Uberaba, classificada atualmente como área sem casos ou silenciosa para a doença.

**Objetivo:** O presente estudo teve como objetivo investigar a fauna de flebotomíneos e aspectos ambientais em diferentes ecótopos de Uberaba. **Materiais e Métodos:** A fim de atender tal objetivo, foram realizadas coletas sistematizadas no período de outubro de 2021 a setembro de 2022, utilizando armadilhas luminosas CDC, distribuídas em 11 pontos do município. Os flebotomíneos capturados foram taxonomicamente identificados e as fêmeas coletadas foram submetidas à extração de DNA e testes moleculares para detecção da infecção natural por *Leishmania* spp. Dados climáticos obtidos da estação meteorológica de Uberaba foram analisados.

**Resultados:** Foram capturados sete flebotomíneos, sendo quatro fêmeas (duas *Lutzomyia longipalpis* e duas *Evandromyia* complexo *cortelezzii*) e três machos (*Lutzomyia longipalpis*). Todas as espécies capturadas são vetores comprovados e/ou suspeitos de *Leishmania* spp. Observou-se que os flebotomíneos foram capturados em meses mais chuvosos entre dezembro e fevereiro. Contabilizou-se e identificou-se a nível família todos os outros insetos capturados durante a coleta, correspondendo a 4.556 espécimes da Ordem Diptera. Psychodidae foi a família mais abundante com 2.553 (56,03%) exemplares capturados no que concerne às possibilidades de entrada do vetor na região, os modelos preditivos de risco sugerem, que as principais áreas susceptíveis à presença do vetor são áreas no entorno do município onde se tem altitudes elevadas, temperaturas menores e áreas úmidas com a presença de grandes rios. O maior risco aparenta estar presente nos setores mais a Sudeste de Uberaba. **Conclusão:** Os resultados apresentados nesse estudo podem contribuir para um melhor entendimento da epidemiologia da LV no município e o direcionamento de medidas preventivas e de controle pelos órgãos responsáveis, especialmente por se tratar de uma cidade sem casos humanos e caninos autóctones. Ademais, o trabalho aqui desenvolvido constituiu-se como um novo esforço teórico-metodológico capaz de investigar elementos entomológicos e ambientais que favorecem a manutenção e controle da doença no município de Uberaba.

**Palavras-chave:** leishmaniose visceral, ecoepidemiologia, Phlebotominae, área silenciosa, Uberaba.

## ABSTRACT

**Introduction:** Considered as a major public health problem and belonging to the Neglected Tropical Diseases, the leishmaniasis are a long-standing challenge to health systems worldwide, given its wide geographic distribution and capacity to affect populations in situations of socioeconomic vulnerability. By understanding the extent of the problem of Visceral Leishmaniasis (VL) in Brazil and its rapid expansion, it becomes urgent to carry out investigations in areas affected by the disease to strengthen measures aimed at reducing the number of cases in the country and prevent its spread in areas without transmission, as is the case of Uberaba, currently classified as an area without cases or silent for the disease. **Objective:** The present study aimed to investigate the sandfly fauna and environmental aspects in different ecotopes of Uberaba. **Materials and Methods:** In order to meet this objective, systematic collections were made in the period from October 2021 to September 2022, using CDC light traps distributed in 11 points in the municipality. The captured sandfly was taxonomically identified and the collected females were subjected to DNA extraction and molecular testing for the detection of natural infection by *Leishmania* spp. Climatic data obtained from the Uberaba weather station were analyzed. **Results:** Seven sandflies were captured, four females (two *Lutzomyia longipalpis* and two *Evandromyia complex cortelezii*) and three males (*Lutzomyia longipalpis*). All of the captured species are proven and/or suspected vectors of *Leishmania* spp. It was observed that the rainiest months, comprising December through February, were the months in which the specimens were captured. All other insects captured during the collection were counted and identified at the family level, corresponding to 4,556 specimens of the Order Diptera. Psychodidae was the most abundant family with 2,553 (56.03%) specimens captured regarding the possibilities of vector entry into the region, the predictive models of risk suggest, the predictive models of risk suggest, therefore, that the main areas susceptible to the presence of the vector are areas surrounding the city where there are high altitudes, lower temperatures and humid areas with the presence of large rivers. The highest risk seems to be present in the southeastern sectors of Uberaba. **Conclusion:** The results presented in this study may contribute to a better targeting of preventive and control measures by the responsible epidemiological agencies, especially because it is a city without autochthonous human and canine cases. Furthermore, the work developed here constituted a new theoretical-methodological effort capable of investigating entomological and environmental elements that favor the maintenance and control of the disease in the city of Uberaba.

**Keywords:** visceral leishmaniasis, eco-epidemiology, Phlebotominae, silent area, Uberaba.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Ciclo de transmissão das leishmanioses.....	23
Figura 2	Casos de LV por Unidade Federada de infecção - Brasil, 2021.....	25
Figura 3	Exemplares de flebotomíneos macho e fêmea.....	26
Figura 4	Mapa de localização do município de Uberaba-MG.....	38
Figura 5	Visão geral dos pontos escolhidos.....	41
Figura 6	Detalhamento dos pontos selecionados com base na LCZ do município..	42
Figura 7	Armadilha luminosa tipo CDC e bateria tensão 12V/7Ah.....	43
Figura 8	Locais selecionados para coletas no município de Uberaba.....	48
Figura 9	Procedimentos de clarificação dos flebotomíneos.....	49
Figura 10a	Caracteres taxonômicos utilizados para identificação de fêmeas.....	49
Figura 10b	Caracteres taxonômicos utilizados para identificação de machos.....	50
Figura 11	Representação esquemática da técnica Nested PCR dirigida à amplificação de um fragmento do gene SSUrRNA de <i>Leishmania</i> spp....	53
Figura 12	Recorte do mapa do município de Uberaba evidenciando os bairros visitados.....	56
Figura 13	Menções de medicamentos representada em nuvem de palavras.....	57
Figura 14	Macho de <i>Lu. longipalpis</i> .....	61
Figura 15	Fêmea de <i>Lu. longipalpis</i> .....	62
Figura 16	Fêmea de <i>Evandromyia</i> complexo <i>cortelezzii</i> .....	63
Figura 17	Técnica PCR do gene da cacofonia IVS6 das fêmeas capturadas.....	67
Figura 18	Nested PCR dirigida ao gene SSUrRNA das fêmeas capturadas.....	68
Figura 19	Modelo preditivo de risco para leishmanioses em Uberaba-MG.....	70
Figura 20	Mapa termográfico da susceptibilidade de nicho para <i>Lu. longipalpis</i> .....	71

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Análise e caracterização dos domicílios.....	59
Gráfico 2	Flebotomíneos capturados no município de Uberaba-MG em comparação com os parâmetros climáticos.....	65
Gráfico 3	Visão geral dos dípteros capturados entre dezembro/2021 e setembro/2022...	69

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Bairros visitados no município de Uberaba.....	55
Tabela 2	Ficha de investigação de aspectos clínicos.....	56
Tabela 3	Características socioeconômicas pesquisadas.....	58
Tabela 4	Perguntas sobre leishmaniose visceral.....	59
Tabela 5	Total de espécies de flebotomíneos coletadas no município de Uberaba..	60
Tabela 6	Variáveis climáticas no município de Uberaba-MG, no período de outubro/2021 a setembro/2022.....	64
Tabela 7	Média mensal da temperatura instantânea e da precipitação.....	65
Tabela 8	Caracterização ambiental dos locais de coleta dos flebotomíneos.....	66

## LISTA DE SIGLAS

AUC – Area Under the Curve  
Aw – Activity water  
CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior  
CCZ – Centro de Controle de Zoonoses  
CDC – Centers for Disease Control  
CVS – Centro de Vigilância em Saúde  
DMSO – Dimetilsulfóxido  
DNA – Deoxyribonucleic Acid  
ELISA - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay  
FAPEMIG – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais  
HIV – Human Immunodeficiency Virus  
HSP70 – Heat Shock Protein 70  
IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística  
INMET – Instituto Nacional de Meteorologia  
IT LEISH – Immunochromatographic Test Leishmaniasis  
ITS1 – Ribosomal Internal Transcribed Spacer  
IVS6 – fragmento do gene constitutivo da cacofonia presente em flebotomíneos  
Km – Kilometers  
LC – leishmaniose cutânea  
LCD – leishmaniose cutânea difusa  
LCL – leishmaniose cutânea localizada  
LCZ – Local Climate Zones  
LED – Light-Emitting Diode  
LMC – leishmaniose mucocutânea  
LnPCR – *Leishmania* nested PCR  
LTA – leishmaniose tegumentar americana  
LV – leishmaniose visceral  
OPAS – Organização Pan-Americana da Saúde  
Pb – Pares de base  
PCLV – Programa de Controle da Leishmaniose Visceral  
PCR – Polymerase Chain Reaction  
PEAa – Plano de Erradicação do *Aedes aegypti*  
POP – Procedimento Operacional Padrão  
RFLP – Restriction Fragment Length Polymorphism  
SES – Secretaria de Estado de Saúde  
SisLeish – System for Leishmaniasis in the Americas  
SMS – Secretaria Municipal de Saúde  
spp. – Espécies  
SRS – Superintendência Regional de Saúde  
SSUrRNA – Small Subunit ribosomal Ribonucleic Acid

UBV – Ultrabaixo Volume

UF – Unidade Federada

VRLA – Valve Regulated Lead Acid

WHO – World Health Organization

ZCL – Zona Climática Local

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	20
1.1	Leishmanioses como problema de saúde pública.....	20
1.2	Biologia e ecologia dos flebotomíneos: compreendendo o papel do vetor na transmissão da doença.....	26
1.3	Técnicas moleculares para detecção de DNA em flebotomíneos.....	28
1.4	Situação das leishmanioses no município de Uberaba-MG.....	29
1.5	Proteção coletiva: abordagens acerca de estratégias de controle vetorial direta e indireta	31
1.6	Utilização de modelagens espaciais em estudos epidemiológicos.....	34
<b>2</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	35
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	36
3.1	Objetivo geral.....	36
3.2	Objetivos específicos.....	36
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	37
4.1	Área do estudo.....	37
4.2	Inquérito epidemiológico humano.....	39
4.2.1	Considerações éticas.....	40
4.3	Caracterização dos pontos de coleta.....	40
4.4	Coleta sistematizada de flebotomíneos.....	43
4.5	Coleta, identificação e acondicionamento dos insetos da ordem díptera.....	47
4.6	Processamento dos flebotomíneos capturados.....	47
4.6.1	Preparação, montagem e identificação dos flebotomíneos.....	48
4.6.2	Avaliação da infecção natural das fêmeas utilizando abordagem molecular.....	50
4.6.3	PCR do gene de cacofonia IVS6 de flebotomíneos (220pb).....	51
4.6.4	Nested PCR dirigida ao gene SSUrRNA de <i>Leishmania</i> spp.....	52
4.7	Dados climáticos.....	53
4.8	Análise estatística.....	53
4.9	Financiamento.....	54
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	54
5.1	Inquérito epidemiológico humano.....	54
5.2	Coletas sistematizadas dos flebotomíneos no peridomicílio.....	60
5.3	Variáveis bioclimáticas e características fitofisionômicas observadas.....	63
5.4	Estudo da infecção natural por <i>Leishmania</i> spp. em fêmeas capturadas no peridomicílio	66
5.5	Outros espécimes da ordem Diptera capturados.....	68
5.6	Mapeamento e predição de riscos de infecção por <i>Leishmania</i> no município de Uberaba	69
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	72
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	82
<b>8</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	83

<b>ANEXO A</b> – Ofício vigilância entomológica sobre o achado <i>Lu. longipalpis</i> .....	103
<b>ANEXO B</b> – Termo de responsabilidade empréstimo de equipamento.....	104
<b>ANEXO C</b> – Parecer do comitê de ética em pesquisa.....	105
<b>ANEXO D</b> – TCLE Responsável legal.....	106
<b>ANEXO E</b> – TCLE Assentimento.....	108
<b>ANEXO F</b> – TCLE Maiores de 18 anos.....	110
<b>ANEXO G</b> – Número da aprovação do projeto FAPEMIG.....	112
<b>APÊNDICE A</b> – Ficha de comorbidades.....	113
<b>APÊNDICE B</b> – Fatores de risco domiciliares e peridomiciliares.....	114
<b>APÊNDICE C</b> – Termo de responsabilidade armadilhas.....	115
<b>APÊNDICE D</b> – Calendário de coletas sistematizadas.....	116
<b>APÊNDICE E</b> – Artigo Biomimética.....	118

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Leishmanioses como problema de saúde pública

As leishmanioses são doenças infecciosas e parasitárias causadas por protozoários do gênero *Leishmania* (Kinetoplastida; Trypanosomatidae). São transmitidas por insetos de diferentes espécies da família Psychodidae, subfamília Phlebotominae (Insecta, Diptera) (ARAUJO-PEREIRA et al., 2018; DA-CRUZ; PIRMEZ, 2018). Grande parte dos indivíduos é infectada em um nível subclínico e permanece assintomática (SINGH; KUMARI; SINGH, 2002); outros desenvolvem uma das três formas da doença: visceral, cutânea ou mucosa. A ocorrência dessas formas depende da virulência e patogenicidade da espécie de *Leishmania* envolvida e da resposta imune do hospedeiro (AKHOUNDI et al., 2017). Cerca de 15 espécies de *Leishmania* produzem formas clínicas que podem afetar, principalmente, a pele e as mucosas (OPAS, 2022).

As leishmanioses apresentam um complexo ciclo de transmissão (Figura 1), o que faz com que os trabalhos de vigilância e monitoramento sejam diferentes para cada cenário epidemiológico. Para que ocorra a doença em determinada área geográfica, é necessária a presença do vetor suscetível e de um hospedeiro/reservatório igualmente suscetível. De modo específico, a LV apresenta dois ciclos epidemiológicos: 1) LV zoonótica: causada principalmente pela *Leishmania infantum*, tendo o cão como hospedeiro primário e com ocorrência no Mediterrâneo, Oriente Médio, Ásia e América do Sul; 2) LV antroponótica: causada por *Leishmania donovani* no subcontinente indiano; nesse ciclo a transmissão ocorre de seres humanos para vetores e novamente para seres humanos (FARIA; ANDRADE, 2012; KUSHWAHA et al., 2022; WAMAI et al., 2020).

Há possibilidades descritas em que o homem, principalmente as crianças em estado de nutrição comprometido, possam ser, em alguns casos, a fonte de infecção, o que aumenta a complexidade da transmissão e a extensão da doença. (BERN; MAGUIRE; ALVAR, 2008; CHAPPUIS et al., 2007; COSTA; PEREIRA; ARAÚJO, 1990; GONTIJO; MELO, 2004). Ademais, elas atingem países em desenvolvimento, sobretudo populações menos favorecidas; por isso, esforços coletivos e governamentais são fundamentais para a realização de seu controle.

Estas doenças se apresentam em um amplo espectro de manifestações clínicas, que incluem: leishmaniose cutânea localizada (LCL), caracterizada por lesão ulcerativa na pele; leishmaniose cutânea difusa (LCD), com aparecimento de lesões nodulares não ulceradas múltiplas; leishmaniose mucocutânea (LMC), quadro que corresponde à presença de lesões mucosas destrutivas; e

leishmaniose visceral (LV), apresentação mais grave da doença, e é resultante da disseminação da infecção para órgãos como baço, fígado e medula óssea. A variedade de formas clínicas reflete a complexidade da interação entre parasitos e hospedeiros (OPAS, 2021a; REITHINGER et al., 2007). A forma disseminada representa 2% dos casos de leishmaniose tegumentar americana, é considerada uma forma rara da doença. De modo geral, o indivíduo acometido apresenta-se com 10 ou mais lesões mistas (papulares, nodulares ou ulceradas) e a disseminação generalizada acontece após alguns dias da formação da lesão inicial. O desfecho clínico dessa forma está intimamente relacionado à resposta imune do hospedeiro frente ao parasito e tem sido comumente relatada em indivíduos com HIV (GOTO; LINDOSO, 2010; MACHADO; PRATES; MACHADO, 2019).

Os agentes etiológicos das leishmanioses pertencem ao filo Euglenozoa, classe Kinetoplastida, ordem Trypanosomatida, família Trypanosomatidae (VESTEG et al., 2019), gênero *Leishmania*, subgêneros *Leishmania* e *Viannia*. Tais subgêneros foram caracterizados segundo o local de adesão e o desenvolvimento do parasito no vetor (usa-se como referência a região do piloro). O subgênero *Viannia* é considerado peripilórico, ou seja, desenvolve-se no intestino posterior do vetor, e o *Leishmania*, suprapilórico, que se desenvolve no intestino médio e anterior do vetor (OPAS, 2021a).

Atualmente, existem mais de 50 espécies de *Leishmania*, das quais pelo menos 21 possuem importância médica (ANVERSA et al., 2018; DA-CRUZ; PIRMEZ, 2018). São espécies causadoras de LTA humana: *Leishmania (Leishmania) amazonensis* (responsável pelas formas clínicas LC, LM e LCD); *Leishmania (Leishmania) mexicana* (forma clínica LC); *Leishmania (Leishmania) pifanoi* (formas clínicas LC e LCD); *Leishmania (Leishmania) venezuelensis* (forma clínica LC); *Leishmania (Viannia) braziliensis* e *Leishmania (Viannia) guyanensis* (formas clínicas LC e LM); *Leishmania (Viannia) lainsoni*, *Leishmania (Viannia) naiffi*, *Leishmania (Viannia) panamensis*, *Leishmania (Viannia) peruviana*, *Leishmania (Viannia) shawi*, *Leishmania (Viannia) lindenbergi* e *Leishmania (Viannia) colombiensis* (forma clínica LC) (DA-CRUZ; PIRMEZ, 2018).

As espécies causadoras da LV humana são *L. (L.) infantum* e *L. (L.) donovani* (DA-CRUZ; PIRMEZ, 2018, p.; LAINSON, 2010; MAROLI et al., 2013; SHAW, 2006; SILVA; PRATA, 2018; STEVERDING, 2017). Há divergências entre muitos pesquisadores sobre o uso do nome para o agente etiológico da LV. Pesquisas revelam, com base nos perfis isoenzimáticos, que *Leishmania (L.) chagasi* seria sinônimo para *Leishmania (L.) infantum* (OPAS, 2021a).

*L. (L.) amazonensis* tem sido evidenciado como etiologia para todas as formas clínicas de leishmaniose (BARRAL et al., 1991; MANN et al., 2021; PORTO et al., 2022). Dados da literatura

revelam outras diferentes espécies envolvidas na transmissão da LV. Destacam-se: *L. (V.) colombiensis* (Norte da América do Sul); *Leishmania (Leishmania) archibaldi* (Sudão, África Oriental) e *Leishmania (Leishmania) tropica* (Norte da África e Ásia Central) (AKHOUNDI et al., 2017; MANN et al., 2021; REITHINGER et al., 2007; SASIDHARAN; SAUDAGAR, 2021).

Os reservatórios silvestres, raposas e marsupiais, possuem hábitos sinantrópicos e podem promover a ligação entre os ciclos silvestres e domésticos. No ciclo doméstico, o cão (hospedeiro e fonte de infecção para o vetor) é um dos alvos nas estratégias de controle da doença. Dependendo da fase da doença e das condições imunológicas, muitos cães infectados se apresentam assintomáticos. E, mesmo estando assintomáticos, são considerados fontes de infecção para flebotomíneos estabelecendo, portanto, importante papel na transmissão da leishmaniose. O cão é considerado um reservatório importante devido ao parasitismo dérmico intenso. A raposinha-do-campo *Lycalopex vetulus* (Lund, 1842) (Carnivora, Canidae) também se comporta como hospedeiro para *Leishmania* spp., e, embora não seja essencial para manutenção e disseminação da doença, ela deve ser levada em consideração quando o controle estiver sendo delineado (DEANE; DEANE, 1962; ESPINOSA et al., 2018; GONTIJO; MELO, 2004; SAPATERA et al., 2022; TRAVI et al., 2018).

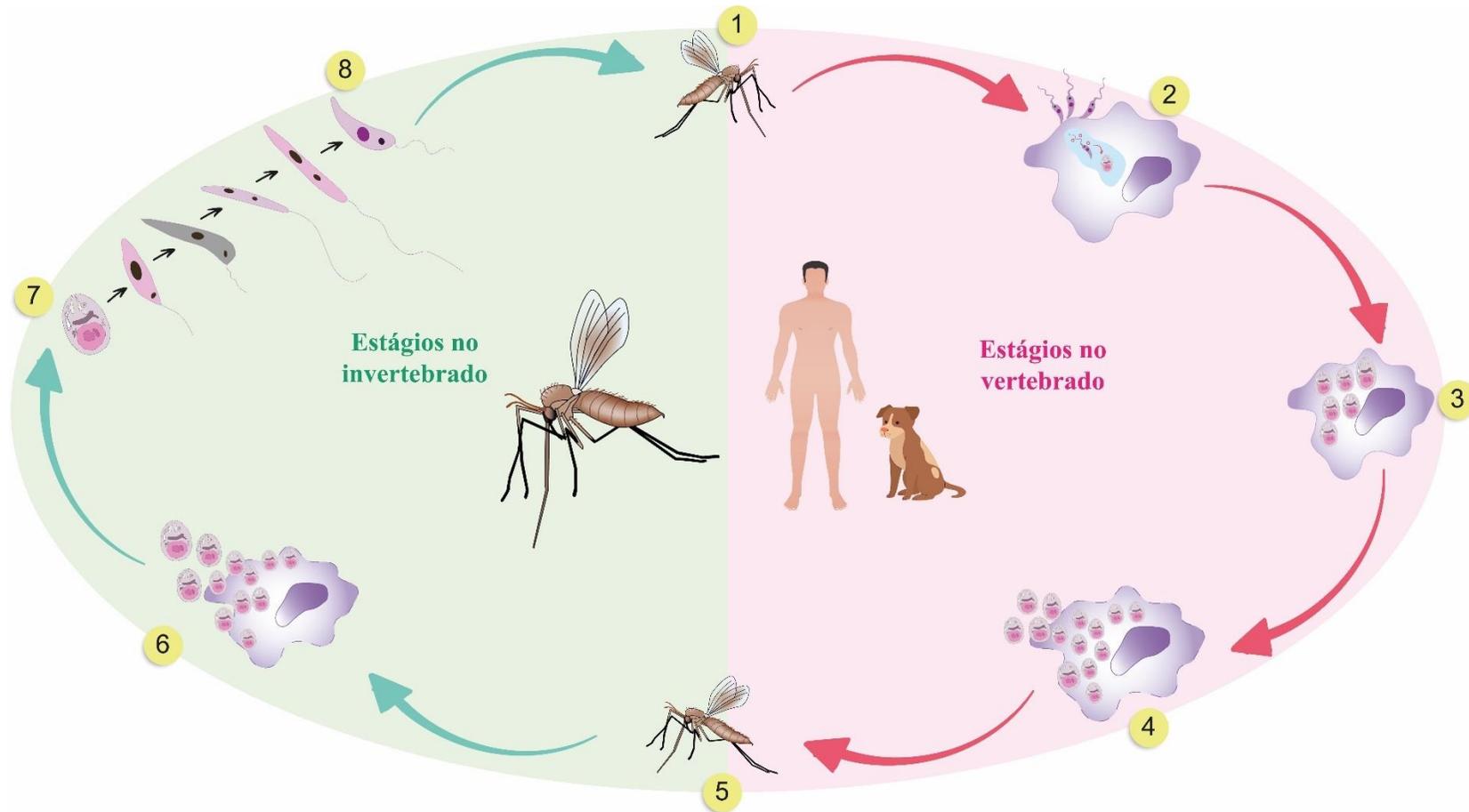


Figura 1 – Ciclo de transmissão das leishmanioses. 1) No repasto sanguíneo, formas promastigotas metacíclicas são ingurgitadas no hospedeiro vertebrado; 2) promastigotas metacíclicas são fagocitadas por macrófagos; 3) promastigotas metacíclicas se diferenciam em amastigotas dentro dos macrófagos; 4) membrana do macrófago se rompe após multiplicação sucessiva das formas amastigotas. Essas formas migrarão para diferentes tecidos; 5) fêmea do flebotomíneo realiza novo repasto sanguíneo no hospedeiro vertebrado e ingere formas amastigotas; 6) células parasitadas por amastigotas se rompem no intestino do flebotomíneo; 7) no intestino médio do inseto, os parasitos sofrerão diferenciações: amastigotas, promastigotas procíclicas, nectomonadas, leptomonadas, haptomonadas e metacíclicas; 8) formas promastigotas metacíclicas migrarão para a glândula salivar do flebotomíneo

Fonte: Elaborado pela autora, 2022.

Importante ressaltar que após a ingestão de formas amastigotas com o sangue, como demonstrado na figura 1, o parasito ingerido enfrentará mudanças adversas no interior do tubo digestório dos flebotomíneo. O desenvolvimento da *Leishmania* e o estabelecimento da infecção necessitará transpor diferentes barreiras, tais como a presença de enzimas digestivas, o escape da matriz peritrófica, as variações de pH e a disponibilidade de oxigênio e de nutrientes. As amastigotas sofrerão diferenciação para os seguintes morfotipos: promastigotas procíclicas; promastigotas nectomonadas; promastigotas leptomonadas; promastigotas haptomonadas e promastigotas metacíclicas. A depender da espécie, o tempo necessário que o parasito precisa para completar o ciclo de vida no vetor leva, em média, 6-9 dias (KAMHAWI, 2006; MIRANDA et al., 2008).

Embora sejam conhecidas e estudadas há bastante tempo, as leishmanioses são consideradas doenças reemergentes e representam importante problema de saúde pública devido à sua complexidade clínica, biológica e epidemiológica (ÁLVAREZ-HERNÁNDEZ et al., 2020; CASTELLANO, 2005). Estima-se a ocorrência de 700.000 a 1 milhão de novos casos por ano (WHO, 2022). A leishmaniose cutânea (LC) é endêmica em 18 países, com estimativa de 54.000 casos notificados ao ano, o que corresponde cerca de 90% dos casos. A distribuição média dos casos concentra-se na região Andina (43%); Brasil (37%); América Central (18%) e o restante no Cone Sul, Caribe não latino e México. Brasil, Colômbia, Nicarágua e Peru são responsáveis por 76% dos casos (OPAS, 2022).

Em 2020, mais de 90% dos novos casos de LV notificados ocorreram em 10 países: Brasil, China, Etiópia, Eritreia, Índia, Quênia, Somália, Sudão do Sul, Sudão e Iêmen, e estima-se a ocorrência anual de 50.000 a 90.000, das quais 25% a 45% são relatados à Organização Mundial da Saúde (WHO, 2022). A doença é fatal em mais de 95% dos casos quando não tratada em tempo hábil. O aumento do risco de óbito pela doença comumente está associado à anemia grave, à coinfeção pelo HIV e, em alguns casos, à icterícia (BRASIL, 2022a).

Caracterizada como a forma mais grave das leishmanioses, a LV é endêmica em 13 países das Américas, com registro de 67.922 casos entre 2001 e 2020, com média anual de 3.400 casos confirmados. Em 2020, do total de casos, 97% foram notificados no Brasil; os demais na Argentina, Bolívia, Colômbia, Paraguai, Venezuela e Uruguai (OPAS, 2021b). Desse modo, dos 13 países com transmissão da doença, sete relataram casos ao *System for Leishmaniases in the Americas* (SisLeish) em 2020, observando-se, portanto, pequena redução geográfica dos casos. Foi observada, entretanto, alta na incidência da LV, que ficou entre três casos por 100.000 habitantes em 2020.

Essa alta incidência pode ser justificada devido ao aumento do número de casos no Brasil e no Paraguai (OPAS, 2021b). O sistema SisLeish foi criado em 2012 pelo Programa Regional de Leishmanioses (OPAS/OMS) com o apoio de assessores e representantes de países endêmicos. Trata-se de uma ferramenta de fácil compreensão contendo indicadores epidemiológicos e operacionais que permitem conhecer, analisar e monitorar a distribuição das leishmanioses nas Américas (MAIA-ELKHOURY et al., 2017).

Entre 2019 e 2021, 6.145 casos de LV foram confirmados no Brasil. A região Sudeste confirmou nesse mesmo período 812 e a maioria deles concentrou-se no Estado de Minas Gerais, com 579 casos. Em 2021, 167 casos foram confirmados. O maior registro de confirmações ocorreu na região Nordeste, com 2.975 casos, seguidos pelas regiões Norte, Centro-Oeste e Sul com 1.053, 302 e 26 casos, respectivamente. Mesmo sob o impacto da subnotificação, potencial resultante da pandemia da Covid-19, a situação do Brasil pode ser exemplificada na Figura 2, em que são apresentados os casos de LV por unidades federadas de infecção no ano 2021 (BRASIL, 2022a).

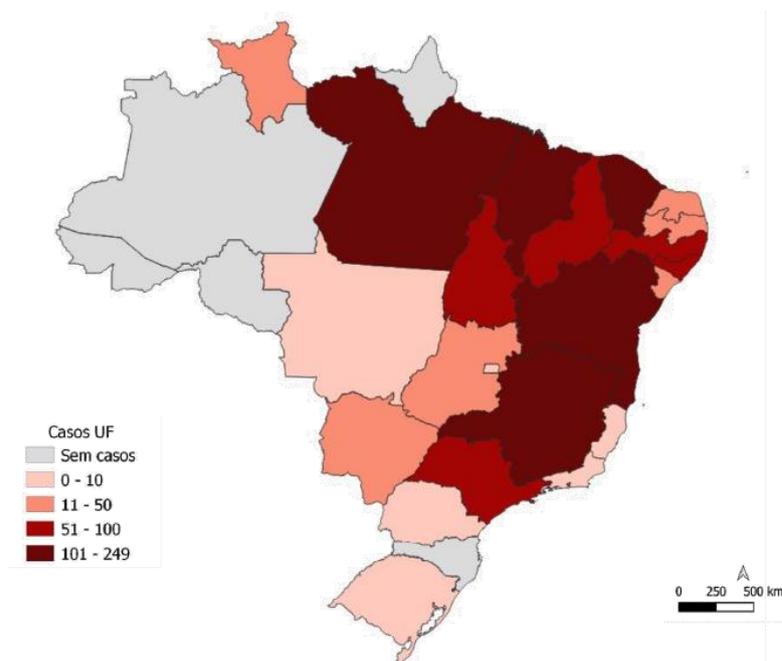


Figura 2 – Casos de LV por UF de infecção. Brasil, 2021

Fonte: SVS/MS, 2021.

Na estratificação de risco para LV (2019-2021), o Estado de Minas Gerais se destaca, pois inclui municípios com os níveis de transmissão: muito intenso (Belo Horizonte); intenso (São João das Missões e Montes Claros) e alto (São João da Ponte, Sete Lagoas, Comercinho, Nacip Raydan, Ribeirão das Neves, Presidente Juscelino, Juvenília, Monte Azul e Ipatinga) (BRASIL, 2022a).

## 1.2 Biologia e ecologia dos flebotomíneos: compreendendo o papel do vetor na transmissão da doença

Os vetores responsáveis pela transmissão da doença são insetos da ordem Diptera (do grego *di* = duas e *pteron* = asas, devido às asas posteriores serem modificadas em halteres, as quais funcionam apenas como estabilizadores de voo), subordem Nematocera, família Psychodidae, subfamília Phlebotominae. Existem mais de 800 espécies de flebotomíneos descritas e pelo menos 98 são vetores comprovados ou suspeitos de transmitir as leishmanioses, o que justifica, portanto, a sua relevância no contexto da saúde pública. Os membros da subfamília Phlebotominae predominam especialmente em regiões tropicais e subtropicais (ANVERSA et al., 2018). Esses insetos são de pequeno porte, medem de 3 a 5 mm de comprimento, possuem corpo piloso e sua coloração varia entre as cores palha e castanho (Figura 3). Em determinadas regiões do Brasil onde se encontram distribuídos, recebem variados nomes populares: mosquito-palha, cangalhinha, birigui, tatuquira, asa dura, asa branca, ligeirinho etc. (BERMÚDEZ; GUILLERMO, 2009; DIAS et al., 2011; OPAS, 2021a).



Figura 3 – Exemplos de flebotomíneos macho e fêmea

Fonte: Da autora, 2022.

Os flebotomíneos possuem como habitat locais úmidos, com pouca luminosidade e pouca movimentação do ar. Essas características se justificam por causa da sua estrutura frágil e do seu tamanho. Eles são encontrados em ambientes protegidos, como ocos de árvores, grutas, fendas de rochas e buracos no solo (BERMÚDEZ et al., 2013; BERMÚDEZ; GUILLERMO, 2009; MARZOCHI et al., 2009; OPAS, 2021a). Além disso, apresentam atividade de movimentação e alimentação em horário crepuscular e noturno; em ambientes de mata fechada, essa atividade pode ser diurna. Com relação à sua capacidade de voo, geralmente esses insetos voam baixo e em pequenos saltos com características peculiares de pouso; suas asas se posicionam de forma ereta, levantadas e entreabertas. Segundo Monteiro-Filho (2017), as formas adultas atingem raios de dispersão de poucas centenas de metros e sua picada no hospedeiro vertebrado costuma ser bastante incômoda e dolorida (BERMÚDEZ et al., 2013; BRASIL, 2014; MONTEIRO FILHO; CONTE, 2017; SANTOS, 2018).

No que tange à identificação taxonômica, as estruturas morfológicas dos adultos utilizados são internas e externas nas fêmeas, principalmente espermateca e cibário; enquanto nos machos são utilizados principalmente estruturas externas como as da terminália. Para ambos, observa-se a medida relativa dos palpômeros e as nervuras das asas (OPAS, 2021a). É importante ressaltar que, mesmo observando as características morfológicas, algumas espécies são consideradas indistinguíveis, consequência da simpatria entre *Evandromyia sallesi* e *Evandromyia cortelezzii*, o que impossibilita a diferenciação das fêmeas dessas espécies, agrupando-as como complexo *cortelezzii* (GALATI, 2021). Além da proposta da taxonomia e sistemática amplamente utilizadas, merece destaque a abordagem promissora conhecida como DNA *barcoding*, que compara um fragmento padronizado de DNA em um banco de dados contendo sequências já conhecidas. Esse método promissor tem facilitado a identificação e descobertas de novas espécies dentre os inúmeros táxons de insetos existentes (DEPAQUIT, 2014; PINTO et al., 2015; RODRIGUES; GALATI, 2023).

Os flebotomíneos são insetos de metamorfose completa (holometábolos). As fêmeas realizam a oviposição diretamente em substrato úmido, preferencialmente rico em matéria orgânica. Os ovos possuem formato elipsoide que, durante a maturação, apresentam-se na cor castanho-escuro. Após a eclosão, tem-se a fase larval, dividida em quatro estádios e que dura, aproximadamente, 14-21 dias (MANSOUR, 2018). Em seguida, observa-se o estágio de pupa. Antes de atingir a emergência do adulto, há um aumento na complexidade morfológica, cor e tamanho da pupa, que permanecem imóveis. Essa fase dura, em média, 6-12 dias a depender da

espécie. O tempo de desenvolvimento, desde o repasto sanguíneo da fêmea até o surgimento do inseto adulto, é bastante variável. Em condições laboratoriais controladas, leva em torno de 26 a 56 dias (MANSOUR, 2018). Machos emergem antes que as fêmeas e após emergência, em 24 horas, a genitália externa do macho sofre uma torção de 180°, e partir desta, eles se tornam sexualmente maduros. Na fase adulta, apresentam dimorfismo sexual e hábitos alimentares específicos. Habitualmente, machos e fêmeas se alimentam de carboidratos provenientes da seiva vegetal. Contudo, as fêmeas, exclusivamente, são hematófagas com aparato bucal refinado e bem adaptado para realização da ingestão de sangue. O sangue será fundamental para a maturação dos ovários e para a formação dos ovos (LAINSON; RANGEL, 2005; MANSOUR, 2018; OPAS, 2021a).

De modo geral, o aumento na difusão e a densidade dos flebotomíneos é um resultado do aumento de criadouros, das fontes sanguíneas, dos desmatamentos e das mudanças climáticas que afetam diretamente a sua dispersão (MARCONDES; ROSSI, 2013; MAROLI et al., 2013). Modificações ambientais causadas por movimentos migratórios e ocupação urbana sem planejamento são fatores de urbanização das leishmanioses, podendo ocasionar, portanto, riscos de emergência e reemergência da doença (COSTA; PEREIRA; ARAÚJO, 1990; ORYAN; AKBARI, 2016; ROSAS FILHO; SILVEIRA, 2007; SASIDHARAN; SAUDAGAR, 2021; SERAFIM et al., 2021).

Assim, diante da complexa relação parasito-vetor-hospedeiro, torna-se necessário a realização de estudos sobre a fauna de flebotomíneos bem como sobre os aspectos ecoepidemiológicos das áreas estudadas. A saber, os flebotomíneos são insetos sensíveis e influenciados por padrões climáticos específicos, tais como: temperatura, umidade relativa do ar e precipitação pluviométrica. Ademais, vale ressaltar que algumas espécies apresentam maior adaptabilidade/flexibilidade em ambientes antrópicos (AGUIAR; RENDEIRO, 2018). Essas variáveis interferem no sucesso da reprodução, garantindo a perpetuação da espécie. A compreensão desses fatores associada à realização de medidas de prevenção e controle poderão minimizar o impacto da doença nas áreas com diferentes perfis de transmissão (ROSÁRIO et al., 2017).

### 1.3 Técnicas moleculares para detecção de DNA em flebotomíneos

Muitas espécies de flebotomíneos são vetores de *Leishmania* spp. Posto isso, essa associação entre protozoário e flebotomíneo dependerá da espécie circulante em determinada região

endêmica. Na América Latina, a principal espécie transmissora da LV é a *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera, Psychodidae) que, além de apresentar uma ampla distribuição geográfica, encontra-se bem adaptada ao ambiente peridomiciliar e possui considerável habilidade de sobrevivência em áreas urbanizadas (LAINSON; RANGEL, 2005). *Lutzomyia cruzi* (Mangabeira, 1938) foi apontada como vetor secundário no Brasil, em específico na área urbana de Corumbá, no estado do Mato Grosso do Sul (DOS SANTOS et al., 1998; GALATI et al., 1997; LAINSON; RANGEL, 2005). Além da *Lutzomyia*, outros gêneros são apontados como vetores comprovados ou suspeitos na transmissão das leishmanioses no país (ARAUJO-PEREIRA et al., 2020; GALATI, 2021).

Comumente, a detecção do parasito é realizada a partir da pesquisa de flagelados e do encontro de formas promastigotas metacíclicas no intestino médio do flebotomíneo. Esse procedimento pode ser realizado após a dissecação da fêmea e observação da porção abdominal em microscopia óptica. O isolamento em meio de cultura pode ser uma alternativa. Nesses dois casos, é imprescindível que o profissional conheça as peculiaridades da *Leishmania* e realize a correta identificação, garantindo resultados confiáveis e conclusivos (KAMHAWI, 2006).

Diferentes metodologias são propostas para identificar a presença de *Leishmania* spp. em amostras. A eletroforese de isoenzimas continua sendo o melhor método e sua desvantagem consiste no isolamento e no cultivo do parasito *in vitro*. Para as espécies neotropicais, outros alvos foram descritos com o objetivo de identificar o DNA de *Leishmania* spp. por meio da técnica PCR: - análise do gene da proteína de choque térmico 70 (HSP 70); - região espaçadora entre os transcritos internos (ITS1), do inglês *internal transcribed spacer*; - identificação do gene SSUrRNA. Outros artifícios metodológicos seriam a técnica de polimorfismo de tamanho de fragmentos de restrição (RFLP) ou o sequenciamento (GARCIA et al., 2004; NASEREDDIN et al., 2006; OPAS, 2021a). As técnicas baseadas na PCR constituem ferramentas importantes em estudos de identificação de flebotomíneos infectados por *Leishmania* spp., devido à sensibilidade de detecção do protozoário (MICHALSKY et al., 2011). A técnica Nested PCR (LnPCR) foi desenvolvida por Cruz et al. (2002) e possui sensibilidade e especificidade para detecção de 0,01 de material genético de *Leishmania* spp., utilizando iniciadores para a região SSUrRNA e sequenciando alvos específicos para diferentes espécies (CRUZ et al., 2002; HAMID et al., 2012).

#### 1.4 Situação da leishmaniose visceral no município de Uberaba-MG

No Guia de Vigilância em Saúde (2022), constam os critérios para classificação de áreas para a vigilância e o controle da LV no Brasil. O enfoque desse material é inserir Estados e municípios silenciosos, ou seja, sem a ocorrência de casos humanos ou caninos da doença, evitando ou minimizando os problemas que a doença pode causar (BRASIL, 2022a).

- **Municípios silenciosos:** são aqueles em que não há conhecimento do registro de casos autóctones de LV em seres humanos ou em cães.
- **Vulnerabilidade:** é definida pela possibilidade da introdução ou da circulação de fontes de infecção de *Leishmania infantum*. O município é considerado vulnerável quando cumpre pelo menos um dos seguintes critérios:
  - É contíguo a município(s) com transmissão de LV canina e/ou humana, considerando o território nacional e os países de fronteira.
  - Apresenta fluxos migratórios nacionais ou internacionais intensos.
  - Integra o mesmo eixo rodoviário de outros municípios com transmissão canina e/ou humana.
- **Receptividade:** é definida pela presença confirmada de *Lutzomyia longipalpis*, ou, na ausência deste, de *Lutzomyia cruzi* ou *Lutzomyia migonei* (*Migonemyia migonei*).
- **Municípios em investigação:** municípios com casos humanos ou caninos suspeitos aguardando a confirmação do diagnóstico para infecção por *Leishmania infantum*.
- **Municípios com transmissão:** são aqueles em que há registro de caso(s) autóctone(s) de LV humana.
- **Municípios endêmicos:** são aqueles com histórico de registro de casos autóctones de LV humana.
- **Surto:**
  - Em município silencioso: quando há o registro do primeiro caso humano ou canino.
  - Em município com transmissão: quando há um incremento no número de casos humanos em relação ao esperado.
- **Municípios com transmissão canina:** são aqueles em que há registro de apenas casos caninos autóctones com caracterização da *Leishmania infantum*. Esses municípios são considerados enzoóticos.

Diante do exposto e entre as classificações existentes, Uberaba enquadra-se, atualmente, como município silencioso. Não há registros de casos autóctones humanos e caninos de leishmaniose visceral no município. Apesar disso, em 2013, foi realizado um inquérito sorológico de leishmaniose visceral canina e, de acordo com registros do Departamento de Controle de

Endemias e Zoonoses, o município apresentava casos não autóctones de LV canina desde 2011. Desse modo, o estudo investigou a presença de *Leishmania infantum* em cães oriundos da zona urbana. Foram testadas 598 amostras com a utilização da técnica ELISA e, desse material, 143 apresentaram-se reagentes (BATISTA, 2016). A técnica PCR para o alvo do kDNA do gênero *Leishmania* também foi empregada e os resultados revelaram que 77 das 352 amostras testadas foram consideradas positivas para tal análise (BATISTA, 2016). As coletas do referido estudo foram realizadas durante a campanha de vacinação antirrábica do município, e os testes após a coleta foram padronizados no Laboratório de Imunologia da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM). Assim, a pesquisa realizada demonstrou que, apesar de Uberaba não ser uma área endêmica para LV, a região apresentava reservatórios domésticos positivos para testes diagnósticos de infecção por *Leishmania* spp. (BATISTA, 2016). Importante ressaltar que durante uma busca ativa realizada em julho de 2018, foi encontrado um espécime de *Lutzomyia longipalpis* no bairro rural Santa Fé.

Dados de 2021-2022 do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) evidenciaram que, em 2021, haviam cinco cães com diagnóstico confirmado para LV (importante ressaltar que eram cães importados de outros municípios). Desses, três cães foram tratados, um eutanasiado e outro o tutor recusou a coleta de material biológico para realização do teste ELISA. Em 2022, dois cães tiveram o teste rápido DPP (*Dual Path Platform*) positivos e ELISA negativos.

Associado a esses fatores, geograficamente o município faz fronteiras com regiões de transmissão de leishmanioses, tornando-o vulnerável (SILVA-FILHO et al., 2019). É o caso de Uberlândia, localizado no Triângulo Mineiro, há 99,28 km de distância de Uberaba. Uberlândia teve seu primeiro caso humano autóctone em 2004 e, na ocasião, foi possível detectar a presença do vetor *Lu. longipalpis* na área urbana. De 2007 a 2019, 29 casos humanos autóctones de LV foram confirmados e, de 2008 a 2017, 86 casos de LTA. Estudos anteriores revelaram soroprevalência canina no município variando de 1,4% a 2,3%. Assim, o município é classificado atualmente como área de transmissão esporádica. (LIMONGI et al., 2021; MENDONÇA, 2018; RIBEIRO, 2021; ROCHA et al., 2022; RODRIGUES, 2019; SILVA-FILHO et al., 2019).

### 1.5 Proteção coletiva: abordagens de estratégias de controle vetorial direta e indireta

No Brasil, têm-se bem estabelecido um programa de vigilância epidemiológica denominado Programa de Controle da Leishmaniose Visceral (PCLV), o qual se objetiva identificar as áreas

vulneráveis ou receptivas para transmissão da doença. Além disso, estão previstos dentro do programa: - avaliação da autoctonia e do local de notificação do agravo; - investigação do local da provável infecção; - identificação da distribuição e dispersão do vetor; - medidas preventivas em casos da ocorrência de LV canina; - promoção de condições necessárias para que profissionais da área da saúde possam diagnosticar e tratar em tempo oportuno os casos de LV (BRASIL, 2014).

Para os casos humanos, orienta-se que o profissional da saúde proceda o diagnóstico e o tratamento precoce do indivíduo acometido. Ademais, para os casos confirmados, a avaliação epidemiológica completa do local da infecção é de responsabilidade da vigilância local. As medidas de proteção individual, como o uso de mosquiteiros, telagem de janelas e portas, uso de repelentes e evitar a exposição em períodos crepusculares e noturnos onde há presença do vetor, são muito recomendados em áreas de transmissão da doença. Por outro lado, as medidas preconizadas dirigidas à presença do vetor são aquelas que focam o manejo ambiental, ou seja, a limpeza e organização de quintais ou áreas propícias de proliferação vetorial (BRASIL, 2014).

Na prospecção dos fatores de riscos domiciliares e peridomiciliares, a vigilância entomológica recebe maior visibilidade, pois indicará com mais precisão a presença e a densidade populacional de flebotômíneos existentes na localidade. Por possuir caráter qualiquantitativo, essas informações auxiliarão os serviços envolvidos na proposição de medidas de controle. Assim, entre as metodologias utilizadas na investigação entomológica, destacam-se as armadilhas luminosas. Ademais, outros métodos poderão ser utilizados para investigações dessa natureza, tais como: capturador manual com tubo de sucção do tipo Castro; capturador manual motorizado; armadilhas de Shannon; armadilhas com isca animal ou feromônios (BRASIL, 2014; BRAY et al., 2010, 2014; COURTENAY et al., 2019b; WARD et al., 1990). De modo geral, no delineamento de estratégias de capturas entomológicas, deve-se levar em consideração locais sugestivos para a presença do vetor, como a presença de animais domésticos, matéria orgânica acumulada (serrapilheiras) e/ou quintais com presença de hortas/pomares (ALTEN et al., 2016; BATES et al., 2015; BRASIL, 2014; CALDERON-ANYOSA et al., 2018; READY, 2013).

No que tange a medidas de proteção coletiva, é recomendado pelo PCLV a borrifação química com deltametrina por meio da utilização de inseticidas de ação residual. Essa medida é direcionada às formas adultas dos flebotômíneos, diminuindo o contato entre o vetor e a população; atuando na redução do risco de transmissão das leishmanioses. Ademais, o manual recomenda que a borrifação seja realizada nos locais com o primeiro registro autóctone da doença em humanos e em áreas com transmissão intensa e muito intensa. Recentemente, coleiras caninas impregnadas com

deltametrina a 4% foram implementadas ao programa como ferramenta no controle da LV (BRASIL, 2022a; CAMARGO-NEVES; RODAS; JUNIOR, 2004). As coleiras possuem ação de repelência contra os flebotomíneos responsáveis pela transmissão da doença e a sua distribuição é realizada pelo Ministério da Saúde aos municípios estratificados segundo a intensidade de transmissão, em média, intensa e muito intensa (BRASIL, 2022a; CAMARGO-NEVES; RODAS; JUNIOR, 2004; TOLEZANO et al., 2018).

As coleiras são de uso exclusivo em cães e promovem lenta liberação do princípio ativo na derme do animal. Em média, após duas a três semanas do uso da coleira, o animal apresenta uma distribuição do inseticida por todo o corpo, protegendo do contato direto com o vetor da *Leishmania infantum* (BRASIL, 2022b). Em todos os casos, essa estratégia necessitará estar bem delineada com o serviço epidemiológico do município – Secretarias Estaduais de Saúde (SES) e Secretarias Municipais de Saúde (SMS) –, haja vista que a sazonalidade e a densidade vetorial precisarão ser conhecidas (BRASIL, 2014).

Estudos que envolvem a borrifação como proteção coletiva revelam correlações positivas entre o percentual de cobertura nos inquéritos caninos e a incidência de casos humanos, visto que o acometimento canino precederá os casos humanos (ALMEIDA et al., 2021; BRUHN et al., 2018; FRAGA et al., 2016; MATSUMOTO et al., 2021; VAZ et al., 2020). Destarte, ações conjuntas que abarcam a eliminação de cães soropositivos e a borrifação em locais estratégicos de prevalência vetorial poderão ser consideradas medidas de controles efetivas (DE OLIVEIRA; DE ARAÚJO, 2003; L. WERNECK et al., 2008; ROMERO; BOELAERT, 2010; WERNECK, 2014).

Com relação à suscetibilidade dos flebotomíneos ao uso dos inseticidas é importante enfatizar que os compostos recomendados atualmente são da classe dos piretroides. Habitualmente, os serviços de vigilância epidemiológicas regionais utilizam o tratamento a Ultrabaixo Volume (UBV), conhecido como “fumacê”, no controle do culicídeo *Aedes aegypti* (BRASIL, 2001), e essa ação pode ser compreendida como coadjuvante no controle de flebotomíneos (GONZÁLEZ et al., 2019; MARCELÓ; CABRERA; SANTAMARÍA, 2014; PESSOA et al., 2015; SARDAR et al., 2018).

Em contrapartida, estudos apontam que o uso indiscriminado de inseticidas/defensivos agrícolas pode acarretar na resistência do vetor a diferentes compostos químicos (ALEXANDER; MAROLI, 2003; BALASKA et al., 2021; HENRIQUEZ et al., 2009). Preconiza-se, portanto, o uso racional desses componentes a fim de atender às demandas públicas, como nos casos das coleiras caninas impregnadas de inseticida (COURTENAY et al., 2019a; YIMAM; MOHEBALI, 2020). Os

piretroides utilizados como estratégia de controle reduzem o contato vetor-hospedeiro e a densidade populacional de flebotomíneos através da impregnação de coleiras específicas. De acordo com o guia de vigilância em saúde (2022), as coleiras são de uso exclusivo em cães e promovem lenta liberação do princípio ativo na derme do animal. Em média, após duas a três semanas do uso da coleira, o animal apresenta uma distribuição do inseticida por todo o corpo, protegendo do contato direto com o vetor. As coleiras devem ser substituídas a cada seis meses (ALEXANDER; MAROLI, 2003; BALASKA et al., 2021; BRASIL, 2022b; COURTENAY et al., 2019a; GÁLVEZ et al., 2018; LEITE et al., 2018; YIMAM; MOHEBALI, 2020).

Pesquisas envolvendo a pulverização em áreas de cultivo agrícola revelaram diminuição das populações de *Phlebotomus papatasi* e *Phlebotomus sergenti* (QUALLS et al., 2015; ROCHA et al., 2021). Contudo, assim como a utilização de inseticidas no ambiente urbano pode resultar em suscetibilidade ou resistência vetorial, a mesma situação pode ser depreendida das áreas destinadas à agricultura (ALEXANDER et al., 2009; FALCÃO; PINTO; GONTIJO, 1988; ROCHA et al., 2021). A quantidade utilizada para controle de invertebrados em plantações pode colocar em risco a eficácia e o impacto de programas de controle na zona urbana, conforme apresentado em estudos realizados na Ásia e Marrocos (ALEXANDER; MAROLI, 2003; DHIMAN; YADAV, 2016; ELNAIEM et al., 2020; VAN DEN BERG et al., 2021).

### 1.6 Utilização de modelagens espaciais em estudos epidemiológicos

Nos estudos das leishmanioses, modelos preditivos vêm sendo amplamente utilizados para avaliar fatores relacionados à modelagem de nicho ecológico, bioecologia dos insetos vetores, dinâmica de distribuição de vetores e sua relação com o uso e cobertura da terra, como apoio para a caracterização de áreas com incidências da doença (SOBERON; PETERSON, 2005). Tais modelagens são capazes de indicar os locais de maior risco para disseminação de doenças vetoriais, como o caso das leishmanioses. A modelagem de nicho ecológico, especificamente, é capaz de estimar as dimensões de nichos ecológicos de diferentes insetos vetores, além disso, é uma ferramenta que analisa a capacidade de sobrevivência frente às alterações climáticas globais e expansão geográfica (APARICIO; BITENCOURT, 2004; DE ALMEIDA et al., 2022; PETERSON; SHAW, 2003).

A criação de mapas temáticos é uma outra ferramenta que permite identificar as áreas prioritárias que carecem monitoramento e planejamento de ações integradas de prevenção e

controle, auxiliando, portanto, os órgãos de saúde direcionados à vigilância epidemiológica de inúmeras doenças. O software MaxEnt e os Sistemas de Informação Geográfica (SIG) têm sido amplamente utilizados para mapeamento, análise espacial e modelagem das leishmanioses em muitas áreas endêmicas (CHAVY et al., 2019; DE ALMEIDA et al., 2022; KARAGIANNIS-VOULES et al., 2013; MOLLALO et al., 2018; SHIRAVAND et al., 2018). Usualmente, as ferramentas de modelagem permitem analisar *in loco* a associação entre a distribuição geográfica das leishmanioses e as variáveis climáticas predominantes. Além disso, podem proporcionar melhor entendimento das condições climáticas favoráveis para a distribuição dos flebotomíneos, favorecendo o monitoramento de áreas de risco, implementação de medidas de prevenção e controle e principalmente diagnóstico e tratamento em tempo oportuno, permitindo, portanto, lidar adequadamente com a doença.

## 2. JUSTIFICATIVA

De acordo com os padrões de transmissão da leishmaniose visceral e seus diferentes níveis de antropização, torna-se importante a realização de estudos investigativos em áreas que se comportam como silenciosas para a doença. Nos últimos anos, observou-se crescente aumento no número de notificações, as quais relacionam-se profundamente às modificações ambientais e ações antrópicas que acabaram alterando o nicho natural de diversos vetores, entre eles os flebotomíneos. Essas ações corroboraram para a urbanização da doença, resultando em exposição dos seres humanos e dos animais domésticos a vetores e parasitos, aumentando, portanto, a extensão do complexo leishmanioses.

Seguramente, as leishmanioses têm sua epidemiologia completamente vinculada à presença dos flebotomíneos e da *Leishmania* spp. Animais silvestres e domésticos comportam-se como reservatórios e sustentam a cadeia da transmissão da doença. Embora não possua casos autóctones de LV canina e humana, Uberaba tem chances reais de ilustrar um cenário endêmico no futuro. Essa premissa pode ser justificada pelo fato de o município, mesmo estando classificado como área silenciosa, poder se tornar uma região vulnerável e receptiva para a doença, visto que, geograficamente, faz divisa com municípios de transmissão esporádica de LV. É o caso do município de Uberlândia, localizado há 99,28 km de Uberaba, com casos autóctones caninos, humanos e presença de flebotomíneos.

Antes da realização desse estudo, pouco se sabia sobre a fauna flebotomínica na região de Uberaba. Desse modo, em 2018, durante uma busca ativa no mês de julho, foi encontrado no município um espécime de *Lu. longipalpis* em bairro rural (informação confirmada no ANEXO A – Comunicação por memorando do Núcleo de Entomologia SRS de Uberaba à Diretoria de Vigilância Ambiental do Estado de Minas Gerais, em 27 de setembro de 2018). Soma-se a isso a considerável soropositividade canina encontrada durante o estudo conduzido por Batista et al. em 2013. Na ocasião, obteve-se resultados importantes tanto nos métodos sorológicos quanto nos métodos moleculares. A técnica ELISA foi empregada e obteve-se 143 amostras reagentes, das 598 testadas (utilizando antígeno bruto de *L. infantum*). Já na técnica PCR para o alvo do kDNA do gênero *Leishmania*, obteve-se resultados positivos em 77 das 352 amostras testadas (BATISTA, 2016). Em 2003 foi realizado no município de Uberaba um estudo envolvendo cães sorologicamente positivos (Macedo, 2003). Das 88 amostras testadas por meio da técnica ELISA, 20 apresentaram-se reagentes para *Leishmania* spp..

Ainda que pouco explorado, o perfil dos fatores climáticos, socioeconômicos, educacionais, de saneamento e hábitos culturais necessitam ser considerados no município. Fica evidente a necessidade de promover o esclarecimento da situação epidemiológica da leishmaniose visceral em Uberaba. Sendo assim, pode-se dizer que o levantamento, a identificação e a caracterização da fauna flebotomínica presente no município são de extrema importância na proposição e no delineamento de medidas de controle adequadas.

### **3. OBJETIVO**

#### **3.1 Objetivo geral**

Realizar o levantamento da fauna de flebotomíneos e analisar a situação dos aspectos ecoepidemiológicos da LV no município de Uberaba-MG, a fim de direcionar as medidas de prevenção e controle preconizadas pelos órgãos públicos.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Estimar a taxa de positividade para leishmaniose visceral humana por meio de teste imunocromatográfico rápido IT LEISH;

- Investigar o nível de conhecimento dos moradores do município de Uberaba acerca da temática leishmanioses;
- Levantar e identificar a fauna de flebotomíneos encontradas nos bairros selecionados para estudo;
- Avaliar a infecção por *Leishmania* das fêmeas capturadas utilizando testes moleculares;
- Analisar descritivamente a distribuição das espécies de flebotomíneos encontradas segundo seus diferentes ecótopos;
- Verificar a influência dos fatores climáticos (umidade relativa do ar, precipitação e temperatura) na curva populacional dos flebotomíneos capturados;
- Predizer fatores de riscos para possíveis surtos de LV humana no município de Uberaba utilizando modelagens geoespaciais.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Área do estudo

O estudo foi realizado no município de Uberaba, pertencente à Mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba e à microrregião de mesmo nome. Possui população estimada de 340.227 habitantes (IBGE, 2021). De acordo com a classificação de Köppen e Geiger (1954), o tipo climático de Uberaba corresponde ao Aw (Tropical de Savana), o qual possui temperatura acima de 18 °C na média do mês mais frio e precipitação média anual de 1.500 mm, com chuvas concentradas no verão. A vegetação original é do tipo cerrado. Contudo, devido ao crescimento acelerado das cidades, a região do Triângulo Mineiro possui 2,4% de sua vegetação original, em que o cerrado foi substituído por plantações de soja, cana-de-açúcar, milho e café, além das pastagens para o gado. Uberaba está equidistante, num raio de 500 km, dos principais centros consumidores do Brasil, como: Goiânia, Brasília, Rio de Janeiro, São Paulo, Belo Horizonte e Vitória (Figura 4).

De acordo com Matushima; Sousa (2021), o município se destaca como polo industrial e crescente polo agroindustrial. Diversas empresas e indústrias são atraídas para Uberaba e, atualmente, conta-se com três distritos industriais em atividade e um quarto em processo de implantação. Entre os segmentos de destaque, encontram-se o alimentício, o metalúrgico, o químico, o moveleiro etc. Fertilizantes e insumos agrícolas fazem de Uberaba um dos principais polos de produção e distribuição do País (MATUSHIMA; SOUSA, 2021).

As atividades do agronegócio, sobretudo as que são voltadas para a prática de pecuária bovina e produção de grãos (soja, milho e sorgo) e cana-de-açúcar, fazem do município destaque internacional (MATUSHIMA; SOUSA, 2021; SANTOS, 2017). Ciência, tecnologia e informação fazem parte do alicerce de desenvolvimento socioeconômico do município uma vez que empresas e indústrias de diferentes setores participam ativamente das etapas do circuito produtivo e de exportação de *commodities*, consolidando, portanto, todos os segmentos mencionados (SANTOS, 2017). Dentre as principais instituições de ensino superior no município, destacam-se: Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Instituto Federal do Triângulo Mineiro (IFTM), Universidade de Uberaba (UNIUBE), Faculdades Associadas de Uberaba (FAZU) e Centro Universitário de Talentos Humanos (UniFACTHUS).

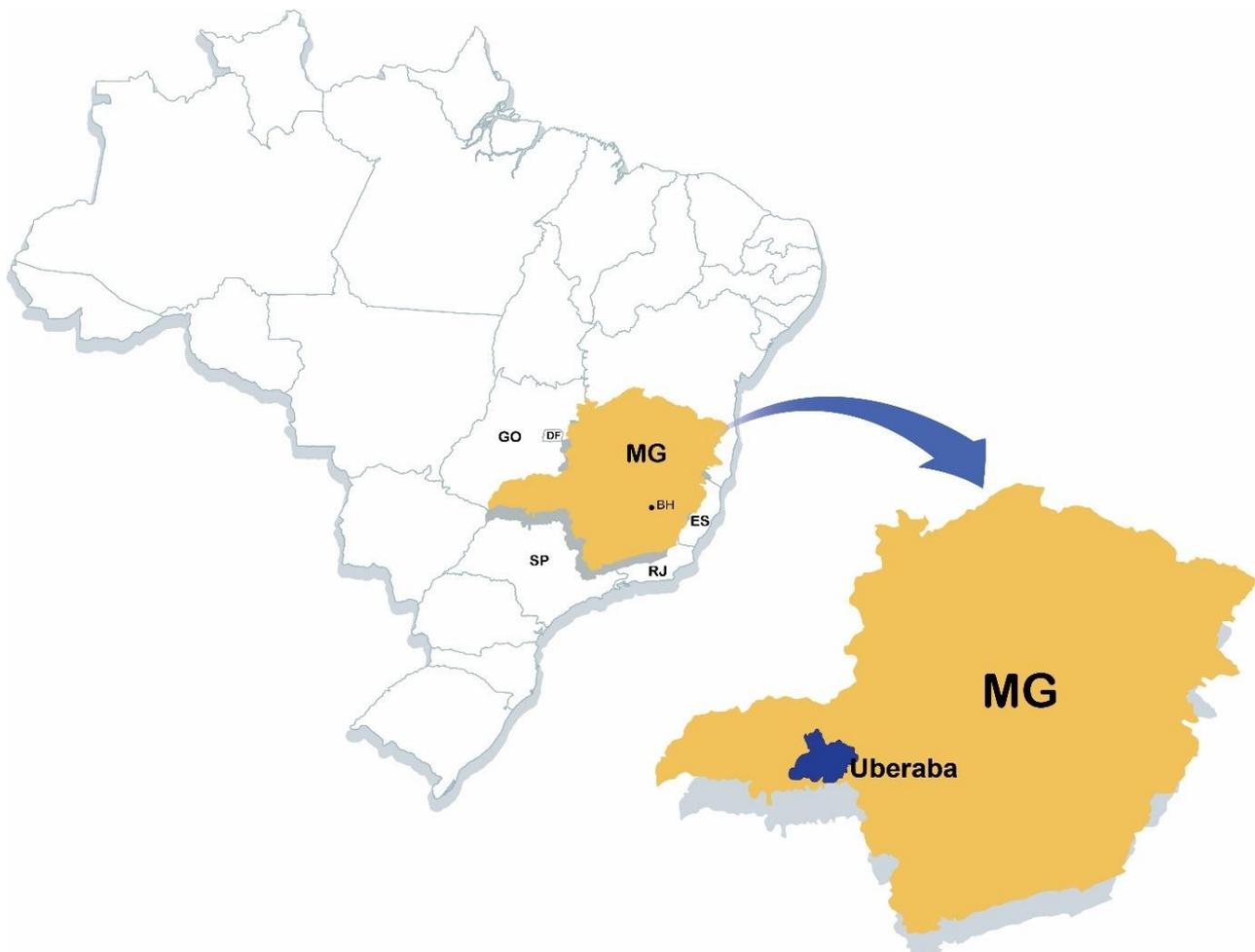


Figura 4 – Mapa de localização do município de Uberaba, estado de Minas Gerais, região Sudeste do Brasil

Fonte: Da autora, 2022.

## 4.2 Inquérito epidemiológico humano

Com o objetivo de estimar a taxa de positividade para leishmaniose visceral humana, optou-se por utilizar testes imunocromatográfico rápido da marca IT LEISH. Todos os indivíduos residentes nos domicílios foram convidados a coletar o teste rápido, independentemente da faixa etária. Por meio de visitas previamente agendadas, diferentes bairros do município de Uberaba foram visitados. Na listagem disponibilizada pelo Centro de Controle de Zoonoses de Uberaba (CCZ), havia o contato telefônico e os endereços dos tutores bem como a autoctonia e o desfecho dos casos. Os critérios utilizados para investigação da doença em humanos foram: presença de cães positivos para leishmaniose visceral e/ou presença do vetor responsável pela transmissão da enfermidade. Nessa lógica, os indivíduos que coabitavam com cães com diagnóstico de LV canina confirmado pelo CCZ foram convidados a participar da pesquisa epidemiológica. A participação somente pôde ser efetivada mediante consentimento e assinatura dos termos constituintes da pesquisa.

Com relação à coleta, o profissional responsável pela realização do teste rápido coletou, após autorização, uma amostra de sangue capilar colhido da ponta do dedo, com material estéril presente no próprio kit. Em cada embalagem do teste individual, havia um dispositivo com uma tira reativa de conjugado; um poço de lavagem; uma tampa de poço; uma ampola conta-gotas com tampão; uma lanceta; um lenço umedecido de desinfecção; uma pipeta (marca impressa de 10  $\mu$ L) e um procedimento de teste esquemático. Todos os testes eram armazenados em caixas térmicas resfriadas com gelo reciclável. A leitura e a análise dos resultados foram realizadas no local da coleta, após 20 minutos, conforme recomendações do fabricante. Dentro das estratégias de condução dos casos positivos, os indivíduos seriam aconselhados a comparecerem no Ambulatório de Especialidades da UFTM para atendimento por especialista em data e horário previamente agendado.

Questionários investigativos acerca dos aspectos clínicos e comorbidades e fatores de riscos domiciliares e peridomiciliares (APÊNDICES A e B) foram utilizados. Esses instrumentos precederam a realização do teste rápido. O questionário de aspectos clínicos foi dividido em: 1) Identificação do participante; 2) Comorbidades existentes; 3) Utilização de medicamentos e 4) Tem sintomas atualmente. O questionário de análise de fatores de riscos domiciliares e peridomiciliares foi dividido em: 1) Identificação do domicílio; Parte I – Dados gerais do entrevistado; Parte II – Caracterização dos domicílios; Parte III – Perguntas sobre leishmaniose visceral.

#### 4.2.1 Considerações éticas

O inquérito epidemiológico humano foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UFTM, sob número de parecer 1.667.477, atendendo às exigências da Resolução 466/12 (Brasil, 2012) (ANEXO C). Além disso, os participantes da pesquisa foram informados sobre os objetivos do trabalho. A participação foi efetivada mediante assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) correspondente à cada faixa etária (ANEXOS D-F).

#### 4.3 Caracterização dos pontos de coleta

O município de Uberaba não possui registros de casos autóctones de leishmaniose visceral canina e humana. Dessa forma, a definição dos pontos de captura envolveu um mapeamento de Zonas Climáticas Locais (ZCLs) (do inglês *Local Climate Zone* – LCZ) (STEWART; OKE; KRAYENHOFF, 2014). Pinton et al. (2021) enfatiza a importância de se considerar o sistema LCZ na investigação de vetores e/ou dados associados às Doenças Tropicais cuja expansão ocorre de modo concomitante à expansão urbana (PINTON et al., 2021).

Os pontos foram selecionados com base em características de três tipos de zonas climáticas locais, sendo eles: LCZ 3; LCZ 7 e LCZ 9. São tipos identificados na periferia de Uberaba em áreas com cursos d'água e vegetação no entorno. Priorizou-se LCZ 7 (que envolve loteamentos populares na periferia) e LCZ 9 (com chácaras no periurbano).

Stewart; Oke (2014) definiram variados tipos de Zonas Climáticas Locais e essas definições podem ser compreendidas de acordo com o tipo de edificação existente, função exercida e localização. Destacam-se as definições de LCZ 3, LCZ 7 e LCZ 9:

LCZ 3 – Forma: edificações baixas (de um a três andares) e pequenas pouco espaçadas, separadas por ruas estreitas. Materiais de construção pesados (concreto, tijolo e cerâmica); telhados (contínuos) e paredes espessas. Cobertura da terra essencialmente pavimentada. Poucas árvores. Fluxo de tráfego moderado. Função: residencial e comercial. Localização: centro e periferia (bairros mais antigos). Relevo local: vale e topo de colina (STEWART; OKE; KRAYENHOFF, 2014).

LCZ 7 – Forma: edificações baixas (de um a dois andares), pequenas e pouco espaçadas. Edificações separadas por ruas estreitas. Pouca ou sem infraestrutura consolidada. Materiais de construção variados (concreto, tijolo, madeira, cerâmica e chapas metálicas); telhados e paredes finas. Cobertura de terra batida ou pavimentada. Poucas árvores. Fluxo de tráfego baixo. Função:

residencial (conjuntos habitacionais populares) e comercial. Localização: periferia. Relevo local: vertente e topo de colina (STEWART; OKE; KRAYENHOFF, 2014).

LCZ 9 – Forma: arranjo esparsa de edificações baixas ou médias em paisagem natural. O fator de visão do céu é máximo. Materiais de construção variados (concreto, tijolo, madeira e cerâmica). Árvores esparsas em abundante cobertura permeável (vegetação rasteira). Demanda insignificante de aquecimento/arrefecimento. Fluxo de tráfego baixo. Função: residencial (única ou várias unidades habitacionais); institucional (*campi*); agrícola (pequenas fazendas ou propriedades rurais – chácaras). Localização: periurbano (STEWART; OKE; KRAYENHOFF, 2014).

Nessa lógica, foram selecionados 11 pontos (Figura 5) contendo os valores de coordenadas e as classes LCZ, sendo eles: comunidade rural Santa Fé, Conjunto Uberaba I, Elza Amuí IV, Jardim Anatê, Jardim Itália II, Recreio dos Bandeirantes, Jardim Canadá, Residencial Beija Flor II, Alfredo Freire II, Jardim Copacabana e Jardim Marajó (Figura 6).

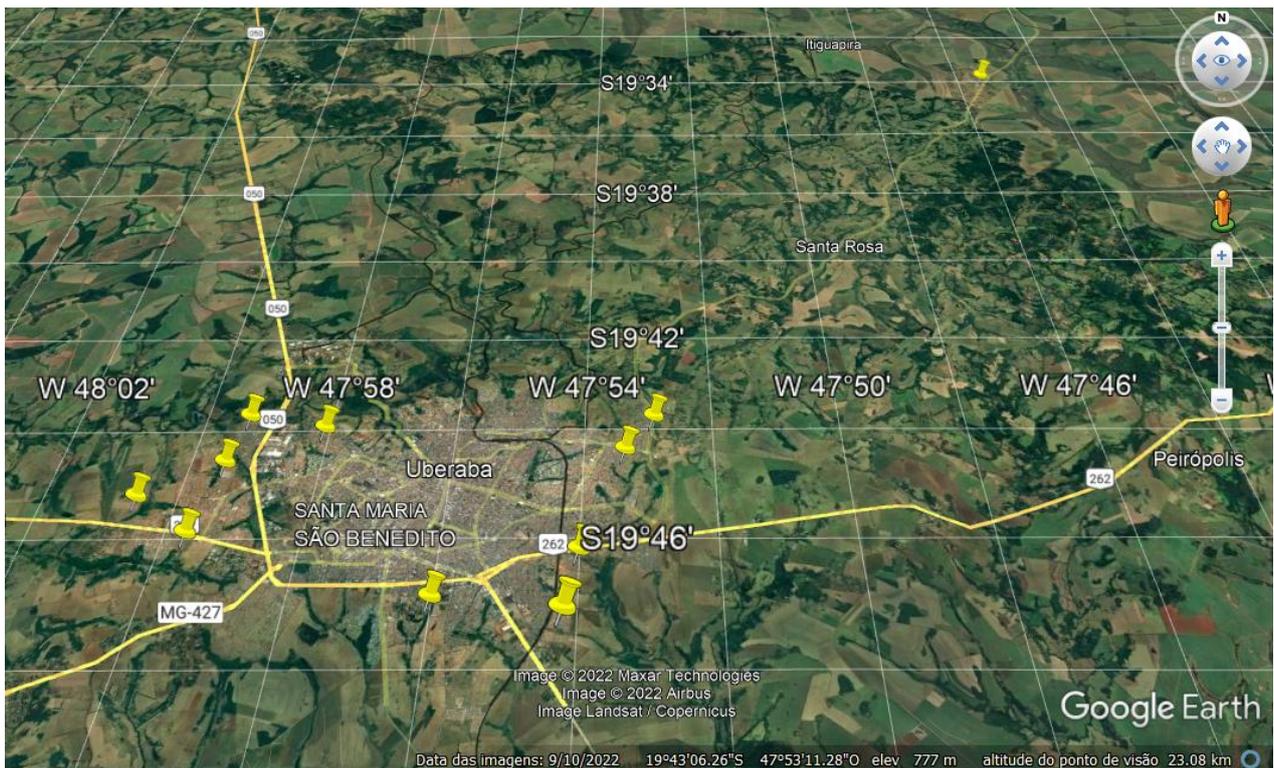


Figura 5 – Visão geral dos pontos escolhidos

Fonte: Da autora, 2022.

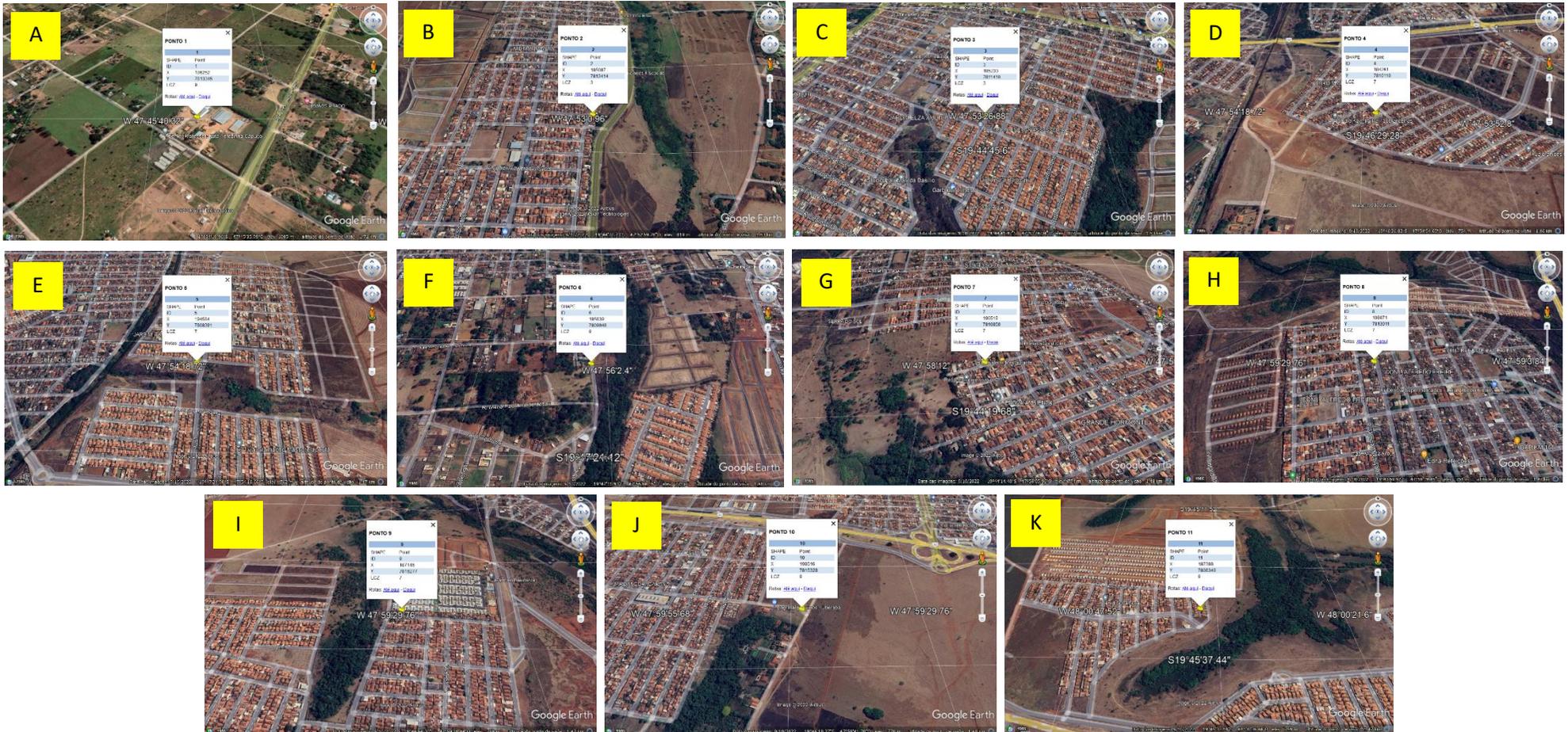


Figura 6 – Detalhamento dos pontos selecionados com base na LCZ no município de Uberaba. A: Ponto 1 – comunidade rural Santa Fé; B: Ponto 2 – Conjunto Uberaba I; C: Ponto 3 – Elza Amuá IV; D: Ponto 4 – Jardim Anatê; E: Ponto 5 – Jardim Itália II; F: Ponto 6 – Recreio dos Bandeirantes; G: Ponto 7 – Jardim Canadá; H: Ponto 8 – Alfredo Freire II; I: Ponto 9 – Residencial Beija-Flor II; J: Ponto 10 – Jardim Copacabana; K: Ponto 11 – Jardim Marajó

Fonte: Da autora, 2022.

#### 4.4 Coleta sistematizada dos flebotomíneos

As coletas sistematizadas foram realizadas com a utilização de armadilhas com isca luminosa do tipo “CDC” (*Center of Diseases Control*) da marca John W. Hock Company®, gentilmente emprestadas pela Superintendência Regional de Saúde de Uberaba – CVS Coordenadoria de Epidemiologia (ANEXO B). Essas armadilhas são operadas por baterias (Figura 7). Nesse estudo, optou-se por utilizar bateria selada de chumbo ácido regulada por válvula VRLA, 12 volts/7 Ampères; e lâmpadas de LED branco. Para carregamento das baterias, utilizou-se carregadores com tensão 12 volts. De modo geral, os insetos são atraídos pela radiação luminosa de alta intensidade e aspirados para o interior do saco coletor (voil), onde permanecem aprisionados até o recolhimento.



Figura 7 – Armadilha luminosa tipo CDC (marca: John W. Hock Company®) utilizada na captura de flebotomíneos e operada por bateria com tensão 12V/7Ah

Fonte: Da autora, 2022.

As armadilhas foram instaladas em ambiente peridomiciliar nos 11 pontos selecionados, em que se preconizou locais próximos a criadouros de animais (canil e/ou galinheiro) e/ou ambientes que tivessem a presença de quintais com árvores frutíferas e/ou matéria orgânica acumulada (Figura

8). As armadilhas foram instaladas a uma altura de um metro aproximadamente do solo e ligadas uma hora antes do crepúsculo vespertino (entre 16h-18h30) e desligadas ao amanhecer (entre 6h-8h30), trabalhando com, aproximadamente, 15 horas de coletas ininterruptas. Ademais, foi solicitado para cada morador a assinatura de um termo de responsabilidade e a autorização de instalação da armadilha no peridomicílio (APÊNDICE C). A instalação nas residências ocorreu sempre na penúltima ou última semana de cada mês, por três noites consecutivas, perfazendo 12 meses de coleta (de outubro de 2021 a setembro de 2022). É imprescindível ressaltar que o Centro de Controle de Zoonoses de Uberaba (CCZ) apoiou a logística do transporte durante os 12 meses de campanha em consonância com o calendário da coleta sistematizada elaborado pela autora (APÊNDICE D). Desse modo, ao final de cada coleta, o material entomológico era transportado em caixas isotérmicas até a Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM) para realização dos demais procedimentos metodológicos.





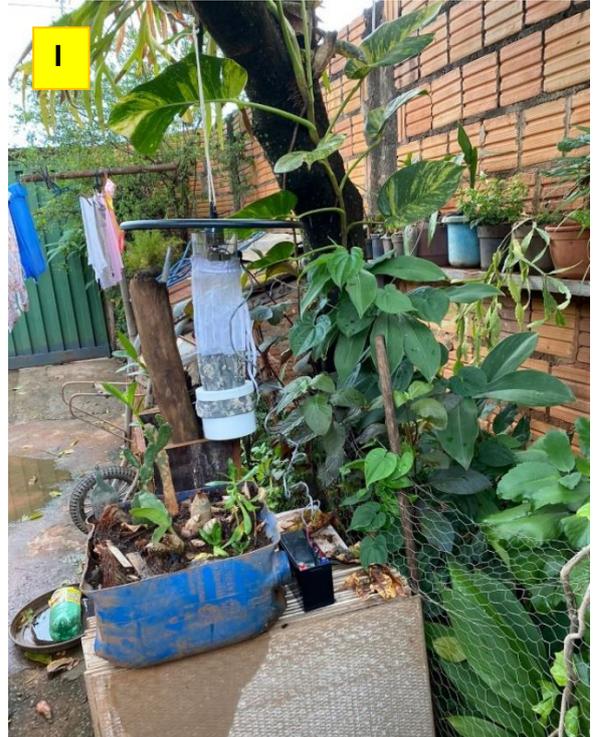




Figura 8 – Locais selecionados para coletas no município de Uberaba. A: Ponto 1 – comunidade rural Santa Fé; B: Ponto 2 – Conjunto Uberaba I; C: Ponto 3 – Elza Amuí IV; D: Ponto 4 – Jardim Anatê; E: Ponto 5 – Jardim Itália II; F: Ponto 6 – Recreio dos Bandeirantes; G: Ponto 7 – Jardim Canadá; H: Ponto 8 – Alfredo Freire II; I: Ponto 9 – Residencial Beija-Flor II; J: Ponto 10 – Jardim Copacabana; K: Ponto 11 – Jardim Marajó

Fonte: Da autora, 2022.

#### 4.5 Coleta, identificação e acondicionamento de outros insetos da ordem Diptera

A partir do mês de dezembro/2021, optou-se por armazenar todos os insetos capturados na armadilha. A pesquisadora responsável pela coleta sistematizada identificou – nível família – todos os espécimes da ordem Diptera capturados. O armazenamento foi realizado em tubos contendo álcool 70%. A identificação nível família foi realizada seguindo a chave taxonômica proposta por Donald J. Borror & Dwight M. DeLong (1969), do livro *Introdução ao estudo dos insetos*, capítulo 27: Ordem Diptera Moscas, Mosquitos.

#### 4.6 Processamento dos flebotomíneos capturados

Os sacos coletores recolhidos foram acondicionados no Laboratório de Imunologia e Parasitologia em refrigeradores com baixas temperaturas (-20 °C) por, aproximadamente, duas

horas. Em seguida, os insetos mortos foram transferidos para placas de Petri, observados em lupa microscópica e separados das outras espécies. Os flebotomíneos capturados foram triados, separados entre machos e fêmeas e acondicionados de formas separadas. Os machos foram armazenados em tubos de hemólise, contendo álcool 70%, para identificação taxonômica, e as fêmeas armazenadas em tubos tipo eppendorf, com solução DMSO 6%, e levadas ao freezer (-20 °C) para posterior análise de infecção por *Leishmania* spp.

#### 4.6.1 Preparação, montagem e identificação dos flebotomíneos

A preparação dos flebotomíneos envolve triagem, clarificação (Figura 9) e conservação do exemplar até a sua montagem entre lâmina e lamínula para posterior identificação taxonômica, conforme Procedimento Operacional Padrão (POP) da equipe do Centro de Referência em Competência Vetorial de Flebotomíneos e Grupo de Pesquisa em Taxonomia de Flebotomíneos do Instituto René Rachou. Os procedimentos de montagem para identificação seguiram estes passos:

- 1) Transferência dos insetos para placas de 96 poços contendo hidróxido de potássio 10%, suficiente para cobrir toda a amostra, num período de 2 a 3 horas, sob observação durante todo o período. Essa etapa tem como objetivo a clarificação da cutícula do flebotomíneo, retirando o excesso da quitina e das cerdas.
- 2) Após 3 horas, os insetos foram transferidos para outros poços contendo ácido acético 10%, permanecendo por 20 minutos. Essa etapa tem como propósito a neutralização do processo de clarificação.
- 3) Após 20 minutos, é iniciado o processo de lavagem, com água tipo I (primeira lavagem); após 15 minutos, os insetos foram transferidos para os poços subsequentes (segunda lavagem) e, após 15 minutos, com a terceira lavagem, o processo foi finalizado.
- 4) Os insetos foram transferidos para uma placa de Petri, contendo lactofenol, por um período mínimo de 24 horas e, em seguida, montados entre lâmina e lamínula, utilizando o líquido de Berlèse, em que foram mantidos por pelo menos 24 horas até a sua identificação taxonômica (LANGERON, 1949 modificada).

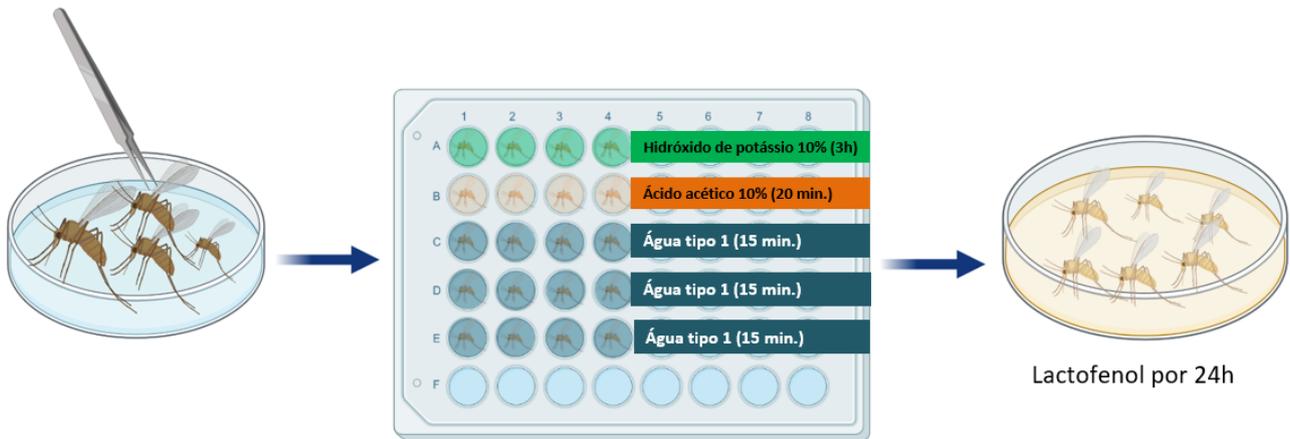


Figura 9 – Procedimentos da clarificação dos flebotomíneos

Fonte: Criado no Biorender.com®

Na etapa de clarificação, é importante ressaltar que o material genético é degradado e que se o objetivo do pesquisador for investigar a infecção natural por *Leishmania* spp., as fêmeas não deverão ser condicionadas ao processo de clarificação. Desse modo, as fêmeas capturadas nesse estudo foram dissecadas em solução salina estéril 0,9% e apenas a cabeça e os três últimos segmentos foram fixados entre lâmina e lamínula com a ajuda do líquido de Berlèse, e posteriormente visualizadas em microscópio óptico para identificação taxonômica. O restante do inseto foi armazenado em microtubos de fundo cônico para processamento. Todo material foi devidamente identificado. Ademais, destaca-se que tanto a cabeça quanto os três últimos segmentos dissecados não passaram por clarificação, pois o próprio líquido de Berlèse fez o clareamento do espécime.

A identificação taxonômica (Figura 10 a-b) dos exemplares capturados foi realizada de acordo com a classificação proposta por Galati (2003), por meio do uso de chaves taxonômicas e de comparações com exemplares de referência pertencentes à Coleção de Flebotomíneos Americanos do Instituto René Rachou/Fiocruz-Minas.

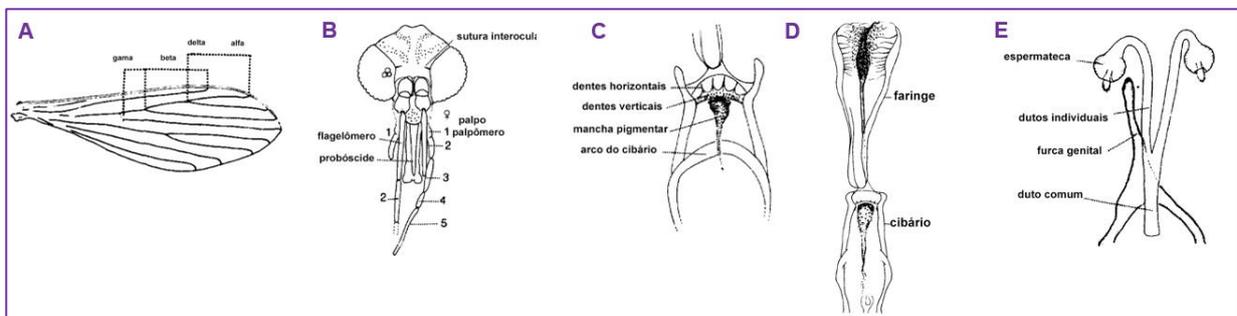


Figura 10 a - Caracteres taxonômicos utilizados na identificação de fêmeas de flebotomíneos. A: asa; B: cabeça; C: cibário; D: faringe e cibário e E: espermateca

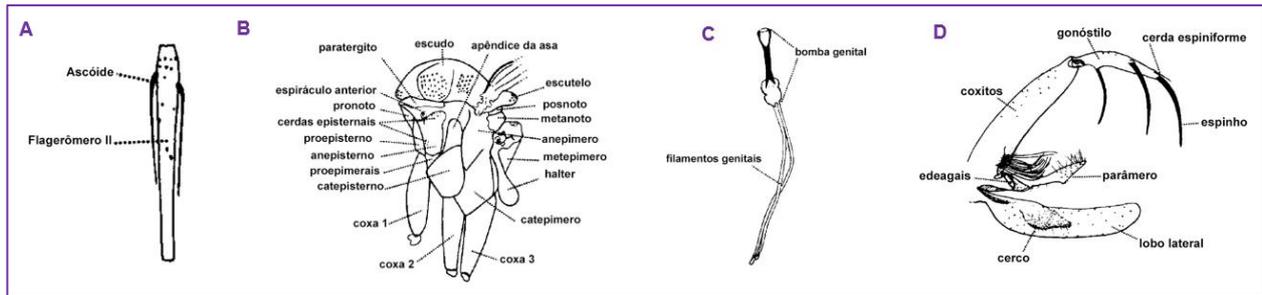


Figura 10 b - Caracteres taxonômicos utilizados na identificação de machos de flebotomíneos. A: flagelômero II com ascóides pareados; B: tórax; C: bomba genital e filamentos; D: terminália

Fonte: (YOUNG; DUNCAN, 1994) (Adaptado – tradução livre)

#### 4.6.2 Avaliação da infecção natural por *Leishmania* das fêmeas utilizando abordagem molecular

Os ensaios de biologia molecular foram desenvolvidos no Instituto de Pesquisas René Rachou – Fiocruz Minas, sob supervisão dos pesquisadores doutores Érika Michalsky Monteiro e Edelberto Santos Dias.

Para extração do DNA das fêmeas capturadas, foi utilizado o kit de Extração de Tecido e Células da GE Healthcare (Ilustra™ Tissue & Cells GenomicPrep Mini Spin Kit). Seguindo as instruções do fabricante, nas etapas que compreende a homogeneização do tecido animal (1ª etapa) e lise (2ª etapa), as fêmeas foram maceradas e, em seguida, foram adicionados ao tubo 50 µL de tampão de lise tipo 1 e 10 µL de Proteinase K. Utilizou-se o vórtex para homogeneizar o conteúdo. Em seguida, os tubos foram levados a banho seco (56 °C) por três horas. Durante esse período, colocou-se o tampão de eluição para aquecer a 70 °C. A 3ª etapa compreendeu o processo de purificação; assim, adicionaram-se aos tubos 500 µL de tampão de lise tipo 4 e utilizou-se o vórtex por 15 segundos para homogeneização. Após isso, o material foi deixado por 10 minutos em temperatura ambiente. Depois desse tempo, o material foi transferido para tubos minicolunas e centrifugado a 11000 x g (14000 rpm) por um minuto e, depois, descartou-se o sobrenadante. Na 4ª etapa, é realizada a lavagem e a secagem do material. Para isso, utilizaram-se 500 µL de tampão de lise tipo 4 e o material foi levado para a centrífuga 11000 x g (14000 rpm) por um minuto, descartando o sobrenadante. Em seguida, no processo de secagem, foram adicionados aos tubos 500µL do tampão tipo 6 e eles foram levados para centrifugação por três minutos a 11000 x g (14000 rpm). Na 5ª etapa (Eluição), transfere-se a coluna para um novo tubo de 1,5 ml e, em seguida, adicionam-se 100µL do tampão tipo 5 pré-aquecido. Esse material foi levado para centrifugação por um minuto a 11000 x g (14000 rpm) e as colunas foram descartadas.

Após a extração do DNA, foi realizada a dosagem de moléculas de DNA nas quatro amostras, a fim de verificar a presença, concentração e qualidade do material genético extraído. Para realização desse procedimento, utilizou-se o espectrofotômetro de microvolume Nanodrop®-1000. Segundo o fabricante, para que os ácidos nucleicos sejam detectados, ajustou-se o espectro de luz para 260 a 280 nanômetros. A razão da absorbância de 260nm/280nm também foi utilizada para avaliar a pureza do material extraído, em que foram considerados aceitáveis valores entre 1,4 e 1,8. Valores menores podem sugerir a presença de proteínas, fenol ou outros componentes contaminados oriundos do processo de extração do DNA.

#### 4.6.3 PCR do gene de cacofonia IVS6 de flebotomíneos (220pb)

O uso da técnica direcionada ao gene de cacofonia dos flebotomíneos é comumente utilizada como aliada na detecção de possíveis falhas na extração do DNA ou nas contaminações durante as técnicas de PCR (SIRLEY, 2017). O principal objetivo da técnica é confirmar a presença do DNA das fêmeas de flebotomíneos capturadas.

Nesse sentido, foi utilizado para a reação um par de iniciadores específicos da região IVS6: 5' GTG GCC GAA CAT AAT GTT AG 3' e 5' CCA CGA ACA AGT TCA ACA TC 3', seguindo o protocolo proposto por Lins et al., (2002). Utilizou-se o kit PuReTaq™ Ready-To-Go™ PCR Beads in a plate (GE Healthcare®).

Na capela de fluxo, utilizou-se 15µL de mix (primers da cacofonia C3 (7µL) e C5 (7µL) e 91 µL de água tipo 1) e 10µL do DNA extraído. Além disso, dois microtubos foram utilizados: um para controle positivo (DNA extraído de *Lu. longipalpis*) e outro para controle negativo (todos os reagentes exceto o DNA).

A amplificação do DNA foi realizada em aparelho termociclador automático (Applied Biosystems ABI Veriti 96-well Thermal Cycler PCR 9902), utilizando os seguintes ciclos: desnaturação a 94 °C por 12 minutos, seguido de 35 ciclos de desnaturação a 94 °C por 30 segundos, anelamento a 55 °C por 30 segundos e extensão a 72 °C por 30 segundos. A extensão final foi de 72 °C por 10 minutos em ambos os ciclos.

Os produtos amplificados pela PCR utilizando iniciadores que amplificam fragmentos do gene constitutivo de flebotomíneos (cacofonia) foram analisados por meio de eletroforese em gel de agarose 2,0%, corados com brometo de etídio e examinados no aparelho de quimiluminescência *Image Quant LAS 4000 – GE Healthcare* por intermédio do software *Image Quant LAS 4000*.

#### 4.6.4 Nested PCR dirigida ao gene SSUrRNA de *Leishmania* spp.

A técnica Nested PCR dirigida ao gene SSUrRNA amplifica um fragmento de uma região conservada entre todas as espécies de *Leishmania* e é aplicada para determinar a infecção natural dos flebotomíneos capturados no ambiente peridomicílio. Tal técnica é utilizada para detecção direta, não necessitando isolamento do parasito a partir de diferentes amostras biológica (CRUZ et al., 2002; GUILLAUME J.J.M. et al., 1992; SIRLEY, 2017). Assim, para a amplificação, utilizou-se um fragmento de 603 pb. Os iniciadores utilizados foram R1: 5' GGT TCC TTT CCT GAT TTA CG 3' e R2: 5' GGC CGG TAA AGG CCG AAT AG 3', seguidos da amplificação de um fragmento de 358 pb, a partir do produto amplificado da primeira reação, utilizando os iniciadores: R3: 5' TCC CAT CGC AAC CTC GGT T 3' e R4: 5' AAA GCG GGC GCG GTG CTG 3' (Figura 11).

A primeira reação “SSU”, com o objetivo de amplificar uma região de 603pb, foi preparada para um volume final de 25 µL. Desse modo, na capela de fluxo, foram utilizados 15 µL de mix (iniciador R1 (7 µL) e iniciador R2 (7 µL) e 91 µL de água tipo 1) e 10 µL de DNA da amostra a ser testada. A amplificação do DNA foi realizada em aparelho termociclador automático (Applied Biosystems ABI Veriti 96-well Thermal Cycler PCR 9902), utilizando estes ciclos: desnaturação a 94 °C por 5 minutos, seguido de 35 ciclos de desnaturação a 94 °C por 30 segundos, anelamento a 60 °C por 30 segundos e extensão a 72 °C por 30 segundos. A extensão final foi de 72 °C por 5 minutos.

A segunda reação “Nested” foi preparada para um volume final de 25 µL. Em microtubos identificados, foram adicionados: os produtos da primeira reação, 15 µL de mix (iniciador R3 (3,5 µL) e iniciador R4 (1,75 µL) e 99,75 µL de água tipo) e 10 µL de DNA. A amplificação do DNA foi realizada em aparelho termociclador automático (Applied Biosystems ABI Veriti 96-well Thermal Cycler PCR 9902), utilizando os seguintes ciclos: desnaturação a 94 °C por 5 minutos, seguido de 30 ciclos de desnaturação a 94 °C por 30 segundos, anelamento a 65 °C por 30 segundos e extensão a 72 °C por 30 segundos. A extensão final foi de 72 °C por 5 minutos.

As duas reações foram preparadas com a utilização do kit de PCR beads (GE Healthcare). Além disso, microtubos para controle positivo (DNA extraído de *Leishmania infantum*) e controle negativo (todos os reagentes exceto o DNA) foram utilizados.

Os produtos amplificados pelas PCRs utilizando iniciadores que amplificam fragmentos do gene SSUrRNA foram analisados através de eletroforese em gel de agarose 2,0%, corados com

brometo de etídio e examinados no aparelho de quimiluminescência *Image Quant LAS 4000 – GE Healthcare* por meio do software *Image Quant LAS 4000*.

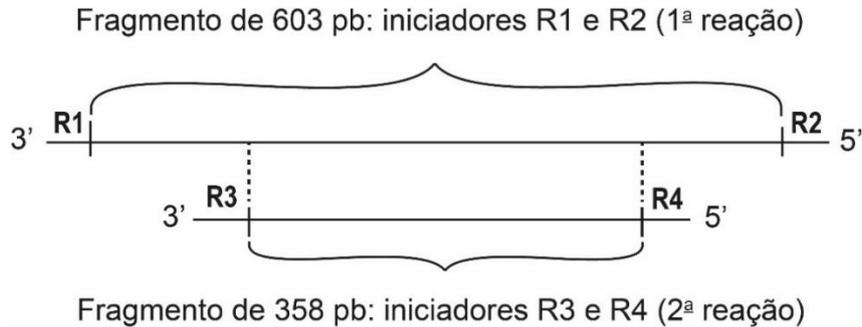


Figura 11 – Representação esquemática da técnica Nested PCR dirigida à amplificação de um fragmento do gene SSUrRNA de *Leishmania* spp.

Fonte: Adaptado de FERREIRA, 2010.

#### 4.7 Dados climáticos

Os dados climáticos de umidade relativa do ar (%), precipitação (mm) e temperatura (°C), referentes ao período do estudo, foram obtidos por meio da Estação Meteorológica Automática (EMA), instalada na Unidade I da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba-MG, em parceria com o Instituto Nacional de Meteorologia (INMET).

#### 4.8 Análise estatística

Os dados encontrados foram tabulados no programa Microsoft Excel® (Office 2010) e as análises descritivas foram registradas no mesmo programa. No que se refere ao inquérito epidemiológico humano, uma análise descritiva dos dados foi realizada por meio do cálculo da frequência absoluta e relativa, analisando as variáveis: comorbidades, fatores de riscos existentes no domicílio e peridomicílio. Avaliações de forma categórica (positivo/negativo e sim/não) foram realizadas, permitindo comparações entre duas proporções dentro de um mesmo momento, com vistas a estabelecer possíveis associações.

Para a construção dos modelos de predição de risco, foram utilizados dados de ocorrência de *Lu. longipalpis* para Minas Gerais e estados vizinhos obtidos do portal GBIF (2022). A partir desses dados, foram construídos Modelos de Susceptibilidade de Nicho para a espécie do vetor no software open source MaxEnt 3.4.4 (PHILLIPS et al., 2017). Como variáveis preditoras, foram utilizadas

camadas bioclimáticas obtidas do WorldClim 2 (FICK; HIJMANS, 2017) com resolução de 1km para a temperatura anual média (bio1), temperatura média do trimestre mais úmido (bio8), precipitação anual média (bio12), precipitação do trimestre mais úmido (bio16) e elevação do relevo – variáveis que podem influenciar a distribuição do vetor. Os modelos foram construídos utilizando 25% dos dados como treinamento, 20 réplicas e reamostragem por máxima verossimilhança com jackknife dos resultados obtidos para a contribuição das variáveis para os modelos. Por fim, um modelo médio foi gerado como uma camada para representar o risco de presença do vetor, utilizando um limiar de corte de 10% dos valores preditivos de ocorrência. O poder preditivo do modelo final foi avaliado utilizando o critério da característica de operação do receptor (ROC). No software QGIS, o modelo foi linearizado e, junto a um shapefile dos setores censitários do IBGE para o município de Uberaba, foi gerado um mapa de nível de risco por setor adjunto a coordenadas de ocorrência de casos positivos para leishmaniose canina. Esses modelos podem, assim, indicar os locais de maior risco para disseminação da doença.

#### 4.9 Financiamento

É importante ressaltar que os testes imunocromatográficos rápidos IT LEISH, utilizados neste trabalho, são oriundos do projeto intitulado “Otimização do diagnóstico precoce e do manejo de indivíduos com leishmaniose visceral em áreas endêmicas com diferentes perfis de transmissão e endemicidade”, financiado pela FAPEMIG sob o número de processo APQ-01608-16 (ANEXO G).

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Inquérito epidemiológico humano

Com relação ao estudo epidemiológico de infecção humana por *Leishmania infantum* realizado no município de Uberaba, foram estudados indivíduos que coabitavam com cães com diagnósticos de LV canina (não autóctones) confirmado pelo CCZ. Foram incluídos bairros cujos resultados laboratoriais apresentavam-se positivos; casos em que materiais de coleta foram insuficientes; resultados positivos de instituições particulares; resultados inconclusivos e resultados que sugeriram leishmaniose cutânea. O contato com os tutores ocorreu por meio de ligação telefônica, a fim de agendar a visita. Assim, dos 62 tutores presentes na listagem do departamento,

41 foram contatados. Desses, apenas 16 concordaram com o agendamento. 25 tutores optaram por não participar do estudo.

Um total de 210 indivíduos foram convidados para participarem da pesquisa que ocorreu de outubro a novembro de 2020. Nessa ocasião, todos os participantes responderam a dois questionários: o primeiro investigou os aspectos clínicos e as comorbidades existentes, e o segundo avaliou os fatores de riscos domiciliares e peridomiciliares e o conhecimento prévio acerca da temática leishmanioses. Em seguida, foi realizado o teste rápido IT LEISH (IT LEISH é um teste imunocromatográfico que utiliza o antígeno recombinante K39 para fazer detecção da presença de anticorpos contra espécies de *Leishmania*). A participação de todos os procedimentos foi efetivada mediante assinatura do TCLE específico para cada faixa etária. A Tabela 1 e a Figura 12 evidenciam os bairros que foram visitados bem como a quantidade de testes realizados.

Tabela 1 – Bairros visitados no município de Uberaba

<b>Bairro</b>	<b>Quantidade de indivíduos que realizaram o teste rápido</b>
Abadia	11
Antônia Cândida	2
Antônio Barbosa	3
Bairro de Lourdes	6
Boa Vista	4
Estados Unidos	1
Gameleiras	11
Residencial Ilha de Marajó	2
Jardim Califórnia	9
Jardim Triângulo	1
Josa Bernardino	1
Leblon	2
Residencial Morumbi	2
Jardim Nenê Gomes	3
Cidade Ozanan	1
Pacaembu	3
Parque dos Girassóis	1
Residencial 2000	2
Rio de Janeiro	1
Comunidade rural Santa Fé	130
Santa Rosa	1
São Benedito	5
Vila Esperança	5
<b>Total</b>	<b>210</b>

Fonte: Elaborado pela autora, 2021.

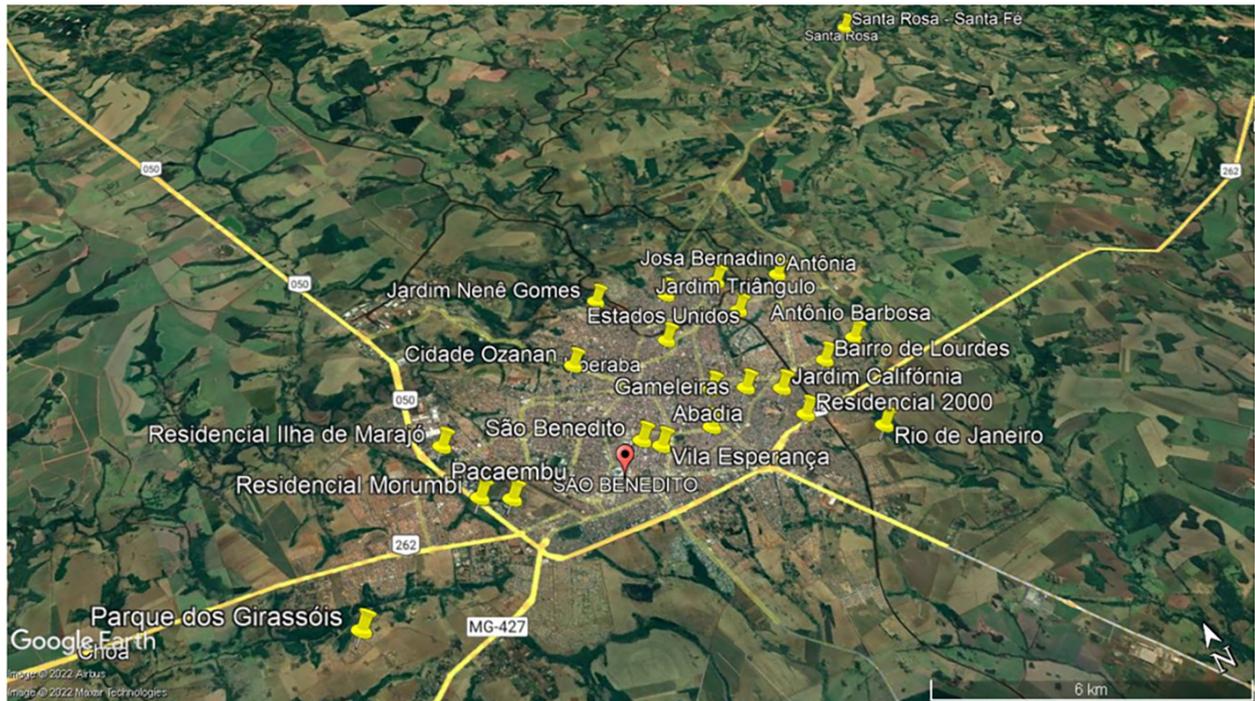


Figura 12 – Recorte do mapa do município de Uberaba evidenciando (marcadores amarelos) os principais bairros visitados durante a pesquisa

Fonte: Da autora, 2022.

Com relação aos resultados dos testes IT LEISH realizados, obteve-se “não reagente” para todas as 210 amostras testadas.

Acerca das respostas do questionário que investigou os aspectos clínicos dos participantes, a Tabela 2 apresenta as respostas elencadas. Dos resultados, depreende-se que, entre as comorbidades elencadas, destacam-se a ansiedade/síndrome do pânico com 59 (28,09%) respondedores; seguida da hipertensão arterial (22,85%), dos déficits visuais (17,61%) e da obesidade (15,71%).

Tabela 2 – Ficha de investigação de aspectos clínicos (comorbidades)

Ficha de investigação de aspectos clínicos			
Comorbidades	Sim (%)	Não (%)	Não sabe (%)
Artrite (osteoartrite)	22 (10,47)	182 (86,66)	6 (2,85)
Osteoporose	14 (6,66)	190 (90,47)	6 (2,85)
Asma	7 (3,33)	201 (95,71)	2 (0,95)
Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica	3 (1,42)	207 (98,57)	0 (0,00)
Insuficiência cardíaca congestiva	3 (1,42)	206 (98,09)	1 (0,47)
Doença neurológica (EM; Parkinson)	1 (0,47)	208 (99,04)	1 (0,47)
Diabetes <i>mellitus</i>	18 (8,57)	186 (88,57)	6 (2,85)
Doença do trato gastrointestinal	17 (8,09)	193 (91,90)	0 (0,00)

Ansiedade ou síndrome do pânico	59 (28,09)	151 (71,90)	0 (0,00)
Depressão	24 (11,42)	185 (88,09)	1 (0,47)
Déficits visuais (catarata, glaucoma)	37 (17,61)	171 (81,42)	2 (0,95)
Déficits auditivos	9 (4,28)	200 (95,23)	1 (0,47)
Obesidade e/ou IMC igual ou >30.	33 (15,71)	173 (82,38)	4 (1,90)
HIV/AIDS	0 (0,00)	206 (98,09)	4 (1,90)
Infecções bacterianas	0 (0,00)	210 (100)	0 (0,00)
Problemas sanguíneos	1 (0,47)	208 (99,04)	1 (0,47)
Hipertensão arterial	48 (22,85)	161 (76,66)	1 (0,47)
Outra doença cardiovascular	13 (6,19)	197 (93,80)	0 (0,00)
Doença imunológica	4 (1,90)	206 (98,09)	0 (0,00)

Fonte: Elaborado pela autora, 2021.

Na questão que investiga a utilização de medicamentos, 106 (50,47%) responderam “sim” e 104 (49,52%) responderam “não”. Entre os medicamentos mais utilizados, destacaram-se estes: hidroclorotiazida, losartana, metformina, atenolol, sinvastatina e o anticoncepcional. Os medicamentos mais frequentes foram mencionados nas respostas dos participantes e estão dispostos a seguir, na nuvem de palavras (Figura 13).



Figura 13 – Menções de medicamentos representadas em nuvem de palavras.  
Disponível em: <<https://www.wordclouds.com/>>.

O questionário de análise dos fatores de riscos domiciliares e peridomiciliares foi dividido em três partes. A parte I relacionava-se aos dados gerais do entrevistado (sexo, idade, escolaridade, trabalho, grau de instrução); a parte II analisava a caracterização dos domicílios envolvidos na pesquisa, nomeadamente a quantidade de cômodos e o número de moradores existentes no domicílio; e a parte III contemplava perguntas acerca da leishmaniose visceral. A Tabela 3 evidencia os diferentes parâmetros analisados nas três partes do questionário.

Tabela 3 – Características socioeconômicas pesquisadas

<b>Características socioeconômicas dos participantes da pesquisa</b>		<b>Total (%)</b>
Sexo	Feminino	124 (59,04)
	Masculino	86 (40,95)
Idade	1-4	1 (0,47)
	5-9	5 (2,38)
	10-14	9 (4,28)
	15-19	17 (8,09)
	20-39	65 (30,95)
	40-59	74 (35,23)
	60-69	33 (15,71)
	70-79	5 (2,38)
	>80 anos	1 (0,47)
Escolaridade	Fundamental completo	32 (15,23)
	Fundamental incompleto	82 (39,04)
	Ensino médio completo	42 (20,00)
	Ensino médio incompleto	22 (10,47)
	Superior completo	17 (8,09)
	Superior incompleto	7 (3,33)
	Primário	7 (3,33)
	Não estudou	1 (0,47)
Trabalha	Sim	138 (65,71)
	Não	72 (34,28)
Número de cômodos no domicílio	1-3	17 (8,09)
	4-6	117 (55,71)
	7-9	67 (31,90)
	10-16	9 (4,28)
Número de moradores no domicílio	1-3	138 (65,71)
	4-6	63 (30,00)
	7-9	9 (4,28)

Fonte: Elaborado pela autora, 2021.

O Gráfico 1 evidencia as respostas obtidas acerca dos aspectos do ambiente peridomicílio analisados, como a existência de animais, quintais, hortas e pomares, se os moradores faziam o uso de esterco de animais para adubagem da horta e/ou pomar e se nos quintais havia acúmulo de folhas secas, lixo e/ou entulho. Diante das respostas obtidas, observa-se que 177 (84,28%) participantes possuíam animais em seus domicílios. 188 (89,52%) residências possuíam quintais. Dessas, havia plantio de horta ou pomar em 108 casas e 92 moradores realizavam a adubagem com esterco.

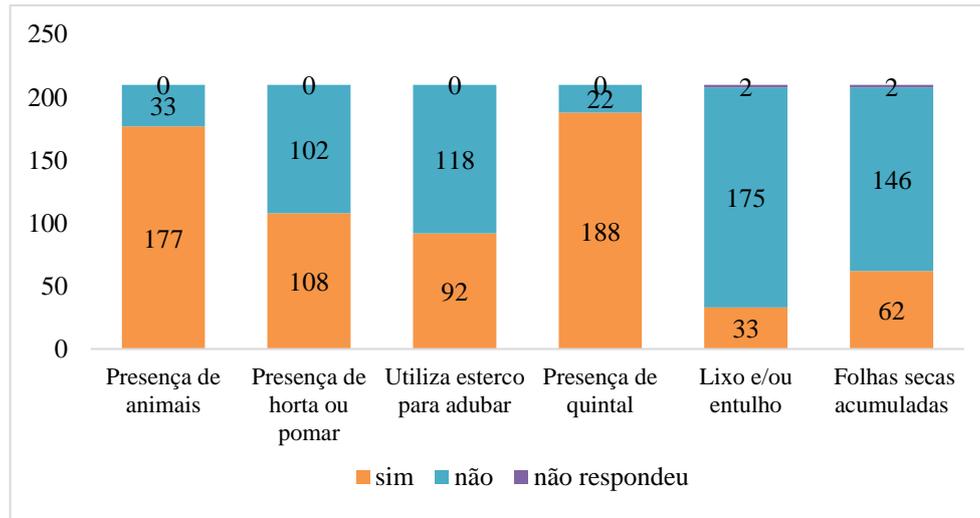


Gráfico 1 – Análise e caracterização dos domicílios.

Fonte: Elaborado pela autora, 2022.

Com relação à frequência de limpeza do quintal, 116 (55,23%) participantes responderam que a limpeza é diária. 72 (34,28%) responderam “semanal”; 10 (4,76%) optaram por “mensal”; 8 (3,80%) responderam “não é limpo” e 4 (1,90%) participantes optaram por não responder à pergunta.

Além dos itens acima analisados, a parte III do questionário investigou o conhecimento dos pesquisados acerca da temática leishmaniose visceral. De fato, como era de se esperar, muitas pessoas desconhecem a extensão do problema LV e as confundem com outras enfermidades (Tabela 4). Um fato que se mostrou relevante é que, para aqueles indivíduos que conheciam a doença, havia muita dificuldade em compreender a transmissão. Desse modo, como responsável pela investigação no campo, levei diversas amostras de flebotomíneos durante as visitas para que todos os moradores pudessem conhecer o vetor, suas peculiaridades, fontes de alimentação e preferências de habitats.

Tabela 4 – Perguntas sobre a leishmaniose visceral

Conhecimentos acerca da LV		
	Sim (%)	Não (%)
Já ouviu falar sobre LV?	59 (28,09)	150 (71,42)
Conhece alguém que já teve LV?	6 (2,85)	204 (97,14)
Recorda-se de algum trabalho sobre LV no município?	3 (1,42)	207 (98,57)

Fonte: Elaborado pela autora, 2021.

Entre as respostas mais frequentes dos participantes que já ouviram falar sobre a doença, 9 (4,28%) já ouviram falar de LV ou LTA em outros municípios (Araçatuba, Araçuaí, Paracatu, São Paulo, Goiás, Uberlândia, Araxá, Norte do Brasil e Belo Horizonte). 8 (3,80%) já ouviram falar sobre LV em postos de saúde, postos de vacinação e no Hospital de Clínicas da UFTM. 8 (3,80%) relataram que leram sobre LV no próprio celular (grupos do WhatsApp, Facebook e pesquisa no google). 11 (5,23%) indivíduos conheceram a leishmaniose visceral canina por intermédio de médicos veterinários, quando seus cães adoeceram com suspeita da doença. 6 (2,85%) já ouviram falar de LV no ambiente escolar e/ou universidade. 13 (6,19%) relataram que ouviram falar da LV na televisão. 4 (1,90%) participantes preferiram não responder acerca do local.

Na questão “Você conhece alguém que já teve LV?”, 6 (2,85%) participantes mencionaram que “sim”. Entre as respostas elencadas, 3 (1,42%) conheciam pessoas diagnosticadas na escola/universidade; 3 (1,42%) conheciam parentes que tiveram a doença, sendo que, em um desses casos, a mãe do participante evoluiu para óbito por LV. O caso não era autóctone do município de Uberaba.

Na pergunta sobre recordações de trabalhos envolvendo essa temática no município, 3 (1,42%) participantes mencionaram a zoonoses com trabalhos investigativos realizados em suas residências; um desses trabalhos estaria relacionado à instalação de armadilha em ambiente peridomiciliar.

## 5.2 Coletas sistematizadas dos flebotomíneos no peridomicílio

Durante o período de coleta (outubro de 2021 a setembro de 2022), foram capturados sete espécimes de flebotomíneos da subtribo Lutzomyiina, dos gêneros *Lutzomyia* e *Evandromyia*, fundamental ressaltar que dentre os flebotomíneos capturados, duas fêmeas eram do gênero *Evandromyia*. No entanto, optamos por identificá-las como pertencentes ao complexo *cortelezzii*, uma vez que as fêmeas de *Ev. sallesi* e *Ev. cortelezzii* são indistinguíveis morfologicamente. Nesses casos, a identificação a nível de espécie é possível apenas para os exemplares machos. A Tabela 5 evidencia o total de flebotomíneos capturados no período de 12 meses.

Tabela 5 – Total de espécies de flebotomíneos coletadas no município de Uberaba-MG, no período de outubro de 2021 a setembro de 2022

Espécies	Números absolutos		
	Fêmeas	Machos	Total

Complexo <i>cortelezzii</i>	2	0	2
<i>Lutzomyia longipalpis</i>	2	3	5
<b>Total</b>	4	3	7

Fonte: Elaborado pela autora, 2022.

Os flebotomíneos foram identificados de acordo com os critérios do *Manual de morfologia e terminologia de Phlebotominae, classificação e identificação dos táxons da América* (GALATI, 2021). Machos e fêmeas foram montados separadamente entre lâmina e lamínula, fixados em líquido de Berlèse, conforme dispostos nas figuras 14-16.





Figura 14 – Machos de *Lu. longipalpis*. A: cabeça; B: tórax e abdômen; C (círculo vermelho): genitália do macho com a presença de caracteres específicos para *Lu. longipalpis*, como aspectos da porção terminal dos dutos edeagais e presença de cerda espiniforme pré-apical, aspectos dos parâmeros e cerdas paramerais

Fonte: Da autora, 2022.

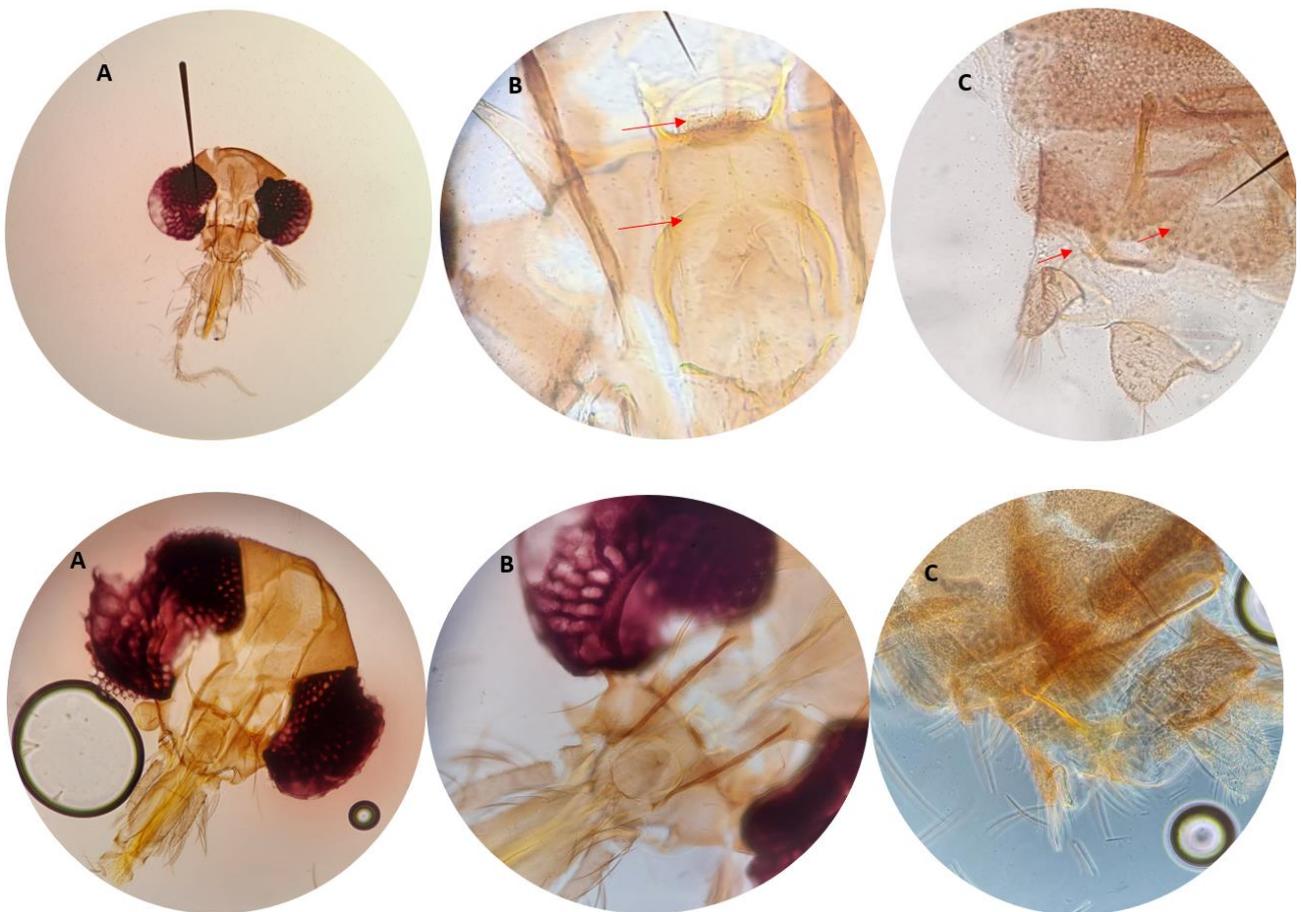


Figura 15 – Fêmeas de *Lu. longipalpis*. A: cabeça de *Lu. longipalpis*; B: detalhe do cibário (setas vermelhas) com arco esclerosado e dentes posteriores com aspecto estiletiforme; C: detalhe dos três últimos segmentos do abdômen evidenciando a espermateca anelada, característica do gênero (setas vermelhas)

Fonte: Da autora, 2022.

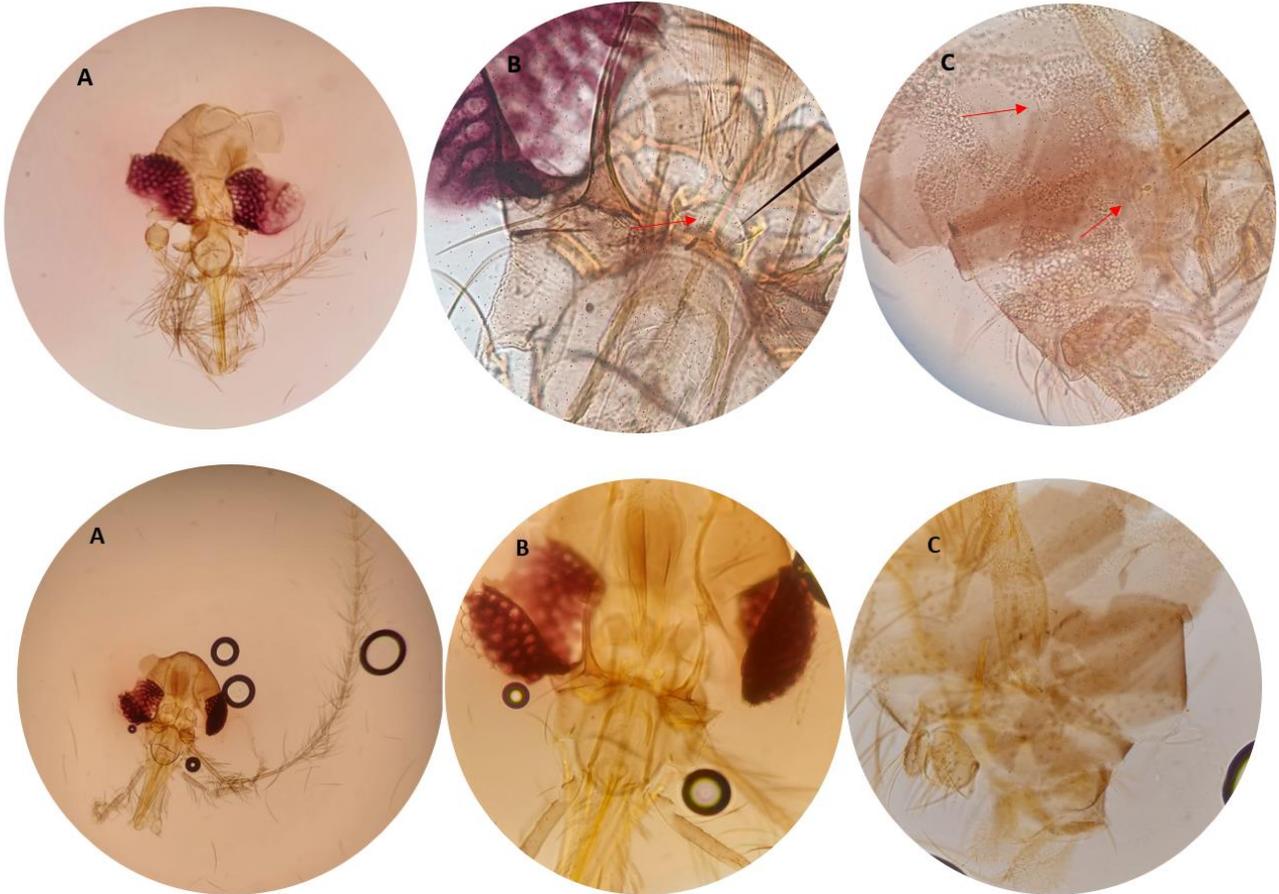


Figura 16 – Fêmeas de *Evandromyia* complexo *cortelezzii*. A: cabeça de *Ev. complexo cortelezzii*; B: cibário com quatro dentes posteriores (horizontais) desenvolvidos e individualizados (seta vermelha); C: três últimos segmentos do abdômen evidenciando a espermateca com a cabeça esférica (setas vermelhas)

Fonte: Da autora, 2022.

### 5.3 Variáveis bioclimáticas e características fitofisionômicas observadas

Durante os 12 meses do período de estudo, de acordo com os dados obtidos no INMET, a temperatura no município de Uberaba variou de 20 a 24 °C, com média anual de 22,4 °C. A

umidade relativa do ar apresentou variação de 52 a 85%, com média anual de 70,8%. Com relação aos dados de precipitação pluviométrica, é possível afirmar que, ao longo dos 12 meses, houve oscilações de valores entre 0,0 mm e 343,8 mm, com média anual de 136,4 mm no período de coleta (Tabela 6). Apesar disso, durante o período de estudo não foi possível constatar nenhuma correlação entre as variáveis climáticas e a abundância de espécies de flebotomíneos devido à quantidade de flebotomíneos capturados. No entanto, há de se considerar que na estação chuvosa, que compreende os meses de dezembro, janeiro e fevereiro/2021-2022, ocorreram a presença dos flebotomíneos capturados (Gráfico 2). A Tabela 7 evidencia a média mensal da temperatura instantânea (°C) e a somatória da precipitação (mm) durante a captura dos flebotomíneos.

Tabela 6 – Variáveis climáticas\* no município de Uberaba-MG, no período de outubro de 2021 a setembro de 2022

<b>Mês</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Umidade relativa do ar (%)</b>	<b>Precipitação (mm)</b>
outubro/21	24,45	72,23	197,8
novembro/21	24,52	71,8	117,6
dezembro/21	23,61	79,21	167,8
janeiro/22	23,26	85,37	343,8
fevereiro/22	23,49	83,76	151,8
março/22	24,17	75,56	161,8
abril/22	23,27	73,96	40,4
maio/22	18,93	72,29	57,6
junho/22	19,37	68,76	10,2
julho/22	20,29	56,16	0
agosto/22	21,29	52,22	11,6
setembro/22	23,29	58,59	103,6
	<b>22,49</b>	<b>70,82</b>	<b>113,6</b>

\*Média mensal da temperatura instantânea, umidade relativa do ar instantânea e precipitação, com base nos dados disponibilizados na estação meteorológica do município de Uberaba-MG

Fonte: Elaborado pela autora, 2022.

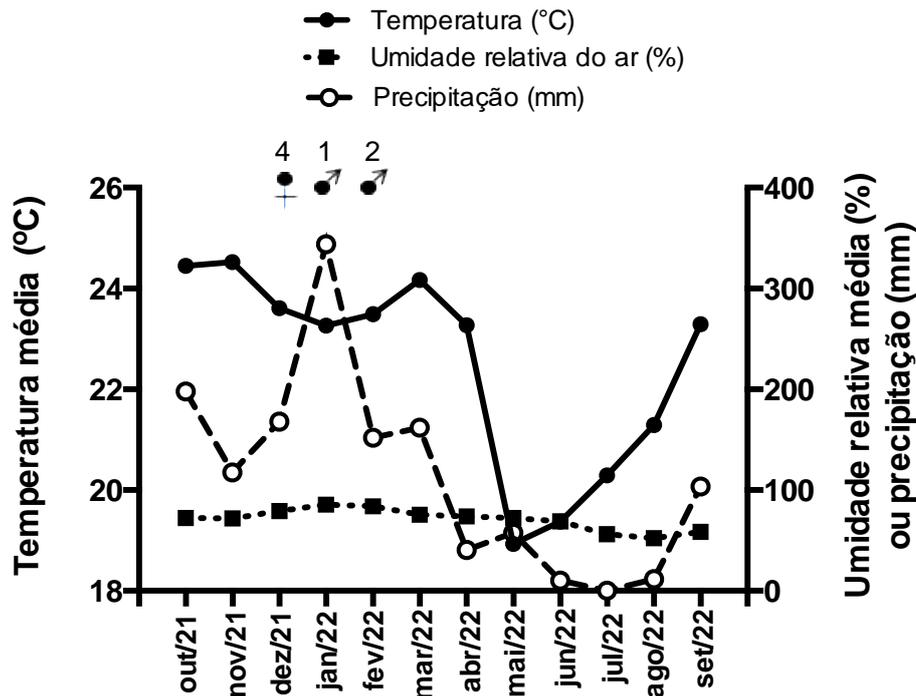


Gráfico 2 – Flebotomíneos capturados no município de Uberaba-MG em comparação com os parâmetros climáticos temperatura (°C), umidade relativa do ar (%) e precipitação (mm)

Fonte: Elaborado pela autora, 2022.

Tabela 7 – Média mensal da temperatura instantânea (°C) e valores totais de precipitação (mm) no período de captura dos flebotomíneos

Mês	Média temp. inst. (°C)	Precipitação (mm)	Flebotomíneos capturados	
			Machos	Fêmeas
dez/2021	23,61	167,8	0	4
jan/2022	23,26	343,8	1	0
fev/2022	23,49	151,8	2	0

Fonte: Elaborado pela autora, 2022.

No que se refere às características fitofisionômicas observadas nos locais em que os flebotomíneos foram capturados e em se tratando de recortes pertencentes ao bioma Cerrado, pode-se dizer que o ponto 1 (comunidade rural Santa Fé) possui como principal característica a presença de formações florestais composta por mata seca e cerradão. Além disso, há presença de cursos d'água próximos ao ponto coletado. O ponto 11 (Jardim Marajó) é uma área recentemente antropizada, abarca diferentes conjuntos habitacionais recém-construídos, contornados por pequenas formações florestais com matas secas e um trecho de formações savânicas (com presença de veredas/ambiente alagado). O ponto 10 (Jardim Copacabana) é um bairro residencial,

recentemente antropizado. É importante ressaltar que esse ponto foi preferencialmente escolhido por se tratar de uma chácara que possuía grande extensão e, ao fundo abarcar uma reserva natural composta por matas de galeria e mata seca (EMBRAPA, 2022). A caracterização ambiental de todos os pontos de coleta é evidenciada na Tabela 8.

Tabela 8 – Caracterização ambiental dos locais de coleta dos flebotomíneos em Uberaba-MG

<b>Local de coleta</b>	<b>ZCL/relevo local</b>	<b>Fitofisionomias observadas</b>	<b>Presença de animais</b>	<b>Presença de lago, córrego, represa</b>
Comunidade rural Santa Fé	9/topo de colina	Mata de galeria	Sim	Sim
Conjunto Uberaba 1	3/vale e topo de colina	Cerrado típico	Sim	Não
Elza Amuí IV	3/vale e topo de colina	Cerrado típico	Sim	Não
Jardim Anatê	7/vertente e topo de colina	Cerrado típico	Sim	Não
Jardim Itália II	7/vertente e topo de colina	Cerrado típico	Não	Sim
Recreio dos Bandeirantes	9/topo de colina	Cerrado típico	Sim	Não
Jardim Canadá	7/vertente e topo de colina	Cerrado típico	Sim	Não
Alfredo Freire II	7/vertente e topo de colina	Cerrado típico	Sim	Sim
Residencial Beija-Flor II	7/vertente e topo de colina	Cerrado típico	Sim	Não
Jardim Copacabana	9/topo de colina	Mata de galeria	Sim	Sim
Jardim Marajó	9/topo de colina	Mata de galeria	Sim	Sim

Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

#### 5.4 Estudo da infecção natural por *Leishmania* spp. em fêmeas de flebotomíneos capturadas no peridomicílio

As quatro fêmeas capturadas foram testadas individualmente. Inicialmente, foram submetidas à PCR do gene constitutivo do DNA de flebotomíneos (cacofonia) e, em seguida, à técnica Nested PCR dirigida ao gene SSUrRNA. Com relação aos produtos da amplificação do

DNA de flebotomíneos obtidos com iniciadores para o gene da cacofonia IVS6, todas as amostras apresentaram-se positivas (220 pb), resultado esperado que validou o processo de extração de DNA. A Figura 17 apresenta o resultado da eletroforese em gel de agarose a 2,0%. As amostras PIN2\* e P1N2 correspondem à espécie *Lu. Longipalpis* e as amostras P11N2\* e P11N2 correspondem à espécie do gênero *Evandromyia* pertencente ao complexo *cortelezzii*. O gel evidencia claramente os gêneros encontrados.

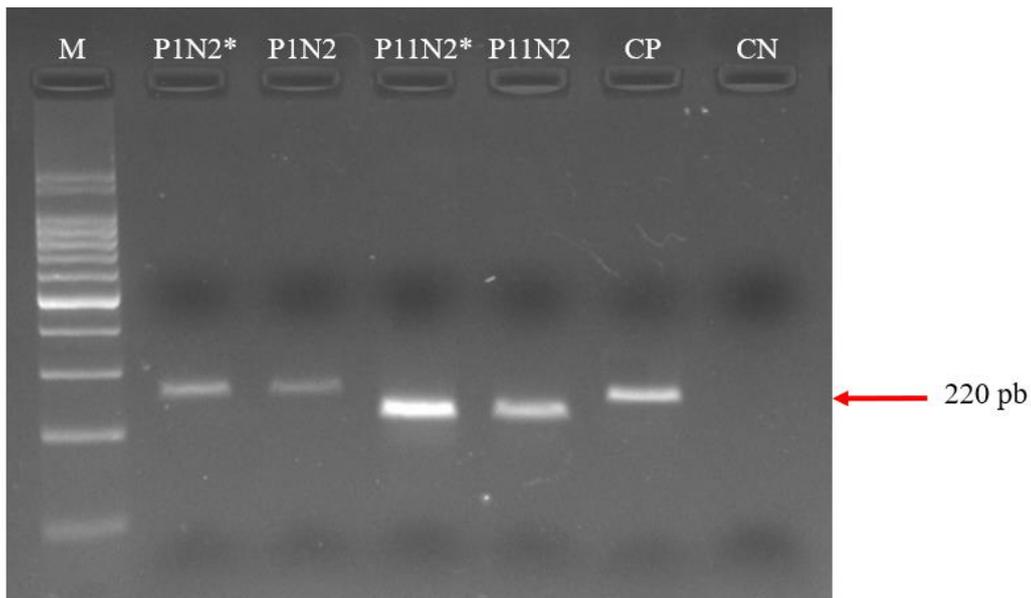


Figura 17 – Técnica PCR do gene da cacofonia IVS6 das fêmeas capturadas. Canaletas: M: Marcador de peso molecular 100 pb; amostras: PIN2\*, PIN2, P11N2\*, P11N2; CP: Controle Positivo da Reação (*Lutzomyia longipalpis*); CN: Controle Negativo da Reação (sem DNA)

Fonte: Da autora, 2022.

Em seguida, as quatro fêmeas foram submetidas individualmente à pesquisa de DNA de *Leishmania* spp. por meio da técnica Nested PCR dirigida ao gene SSUrRNA, seguida de eletroforese em gel de agarose 2,0%. De acordo com Schönian et al. (2003), esse alvo apresenta maior sensibilidade da técnica em relação à região intergênica ITS1 (SCHÖNIAN et al., 2003). Desse modo, os resultados revelaram que não havia a presença do fragmento de 358 pb, que caracteriza a positividade para *Leishmania* spp. nas amostras testadas (Figura 18).

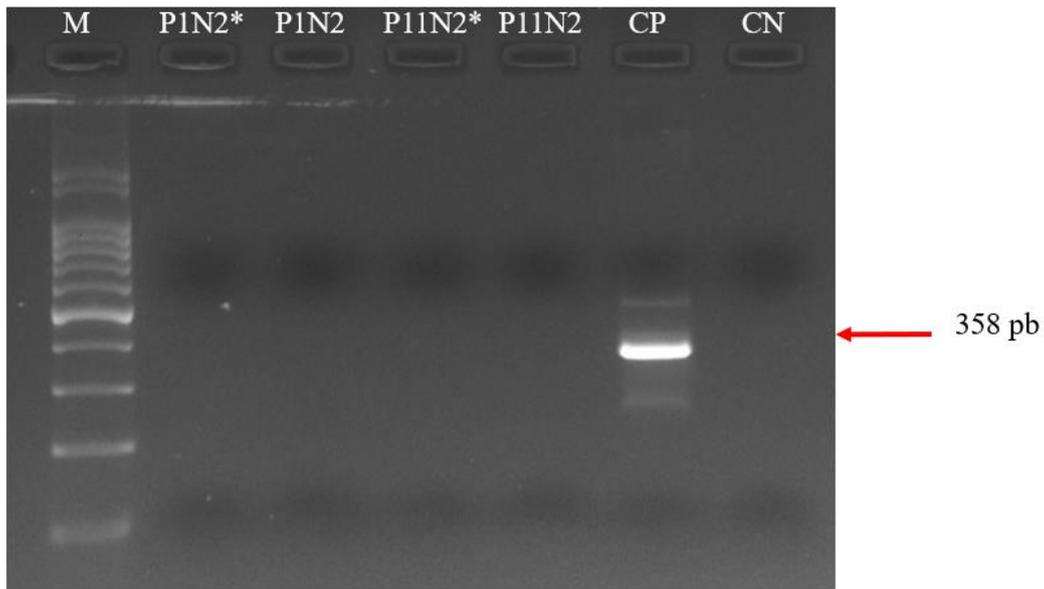


Figura 18 – Nested PCR dirigida ao gene SSUrRNA das fêmeas capturadas. Canaletas: M: Marcador de peso molecular 100 pb; amostras: P1N2\*, PIN2, P11N2\*, P11N2; CP: Controle Positivo da Reação (*Leishmania infantum* - PP75); CN: Controle Negativo da Reação (sem DNA)

Fonte: Da autora, 2022.

### 5.5 Outros espécimes da ordem Diptera capturados

No sentido de conhecer a fauna presente em ambiente peridomiciliar dos pontos selecionados, optou-se por não descartar nenhum inseto capturado a partir do mês de dezembro/2021. Tendo em vista que a armadilha CDC foi desenvolvida para captura de pequenos insetos, observamos que outras famílias estiveram abundantemente presentes no período de coleta (Gráfico 3), inclusive vetores de importância médica, como o *Aedes aegypti*, da família Culicidae. De modo geral, entendemos que, para avaliar a competição entre as espécies, faz-se necessário um ambiente controlado que simule a natureza com recursos e laboratórios específicos. Assim, os demais dípteros foram triados e identificados a nível família ou subfamília, como foi o caso da família Psychodidae, que abarcou, nesse estudo, as subfamílias Phlebotominae e Psychodinae. Um total de 4.556 insetos foram capturados e triados ao longo da coleta sistematizada. A identificação das famílias foi realizada seguindo os critérios de taxonomia dos dípteros propostos por Donald J. Borror & Dwight M. DeLong (1969), no livro *Introdução ao estudo dos insetos*, capítulo 27: Ordem Diptera Moscas, Mosquitos.

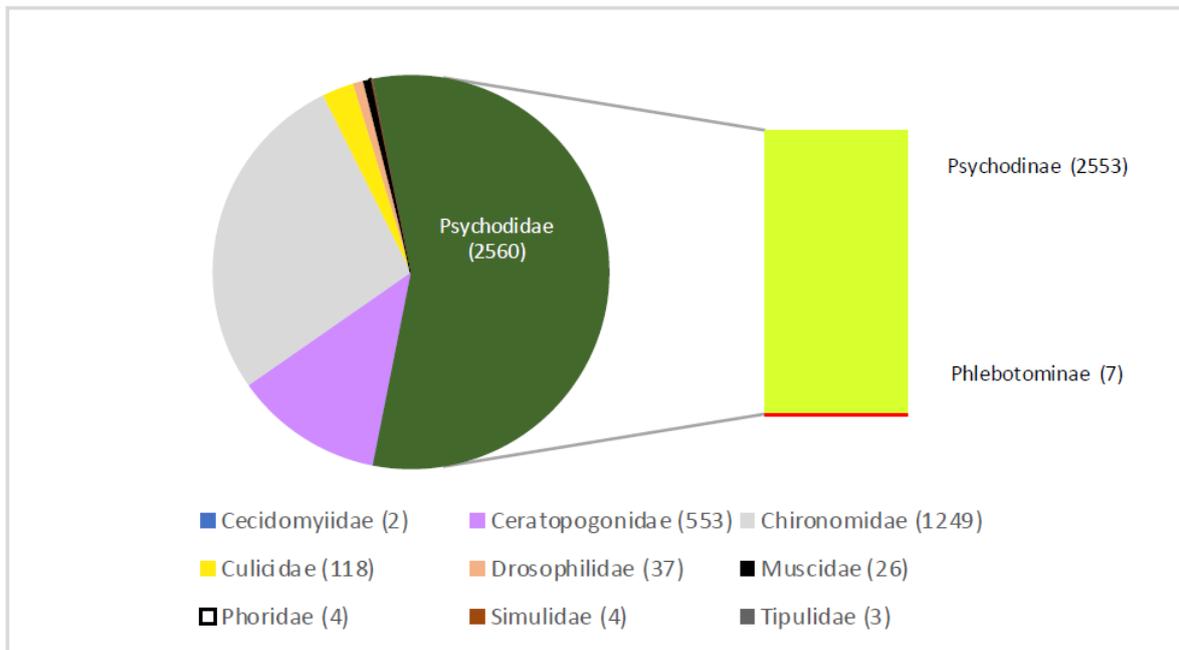


Gráfico 3 – Visão geral dos dípteros capturados entre dezembro/2021 e setembro/2022

Fonte: Elaborado pela autora, 2022.

Portanto, depreende-se que dentro dos grupos de dípteros mais capturados, a subfamília Psychodinae, correspondendo a 2.553 (56,03%), foi a mais abundante, seguida das famílias Chironomidae e Ceratopogonidae, com 1.249 (27,41%) e 553 (12,13%) espécimes, respectivamente.

#### 5.6 Mapeamento e predição de riscos de infecção por *Leishmania* no município de Uberaba

Os modelos preditivos de risco tiveram um alto poder preditivo ( $AUC > 0.9$ ) (Figura 19) e sugerem que as principais áreas susceptíveis à presença do vetor são áreas no entorno do município de Uberaba, onde se tem áreas com altitudes mais elevadas, temperaturas menores e áreas mais úmidas com a presença de grandes rios (Figura 19). O modelo mostra que, provavelmente, as áreas com maior risco para a presença do vetor são as áreas de entorno de Uberaba e municípios adjacentes (Figura 20 a), onde setores censitários periurbanos possuem maior risco de sobreposição entre a presença do vetor e a presença de cães positivos para a doença (Figura 20 b). O maior risco aparenta estar presente nos setores mais a sudeste do município de Uberaba. Os modelos com resultados mais confiáveis são aqueles com valores de AUC próximos a 1, apresentando melhor sensibilidade (taxa de verdadeiros positivos ou ausência de erro de omissão) e especificidade (taxa

de falsos positivos ou erro de superpredição). Tais fatores determinam a capacidade do modelo discriminar áreas com registros de ocorrência e a superprevisão de áreas não ocupadas pela espécie.

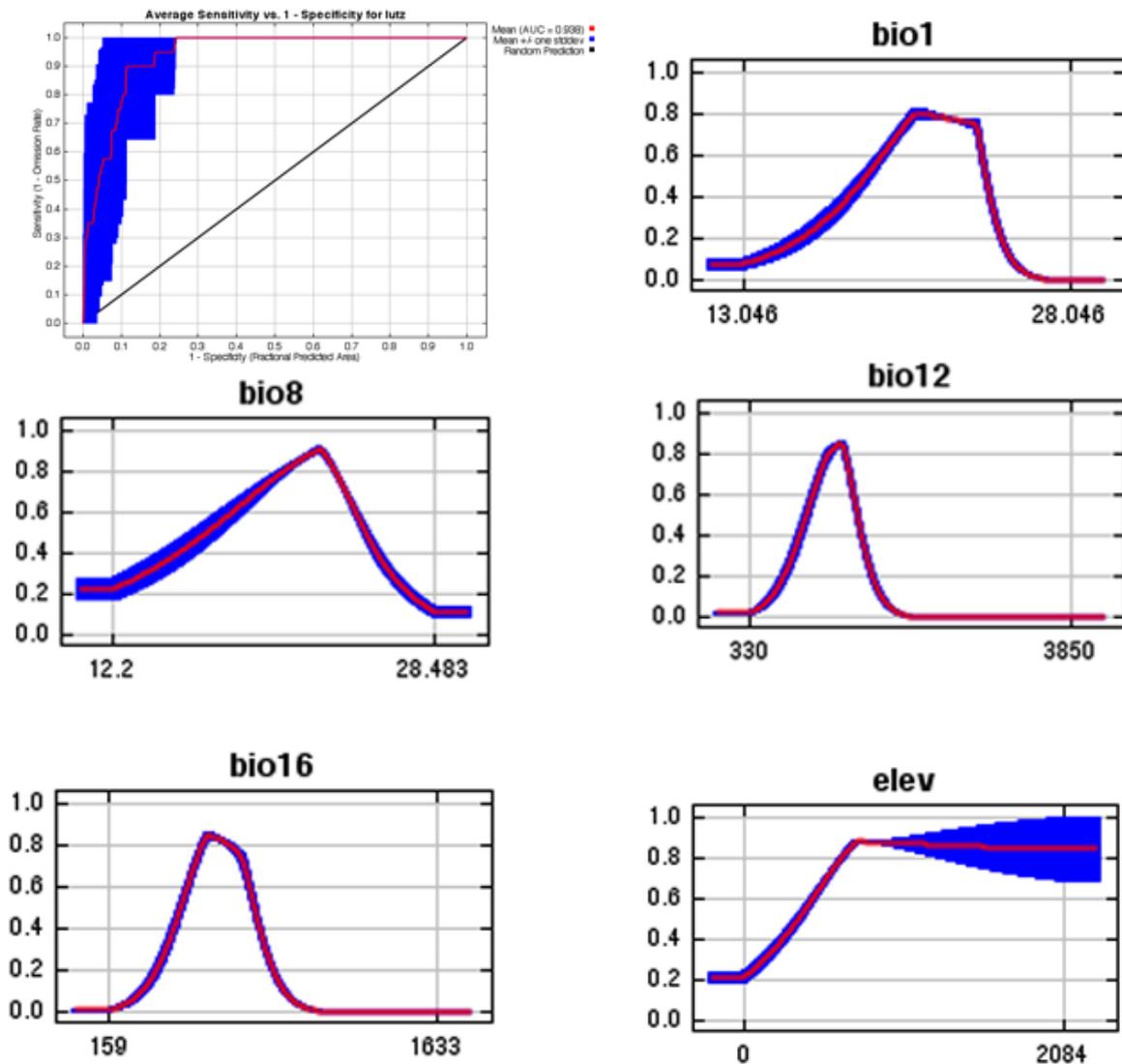


Figura 19 – O poder preditivo do modelo de susceptibilidade de nicho para *Lu. longipalpis* foi alto ( $AUC > 0.9$ ), sendo que valores médios de temperatura anual média (bio1), temperatura média do trimestre mais úmido (bio8), precipitação anual média (bio12), precipitação do trimestre mais úmido (bio16) contribuíram mais para a construção do modelo, assim como valores mais altos de elevação do relevo (elev).

Fonte: Ferreira, R. G.; Silva, P. E. F. (2023)

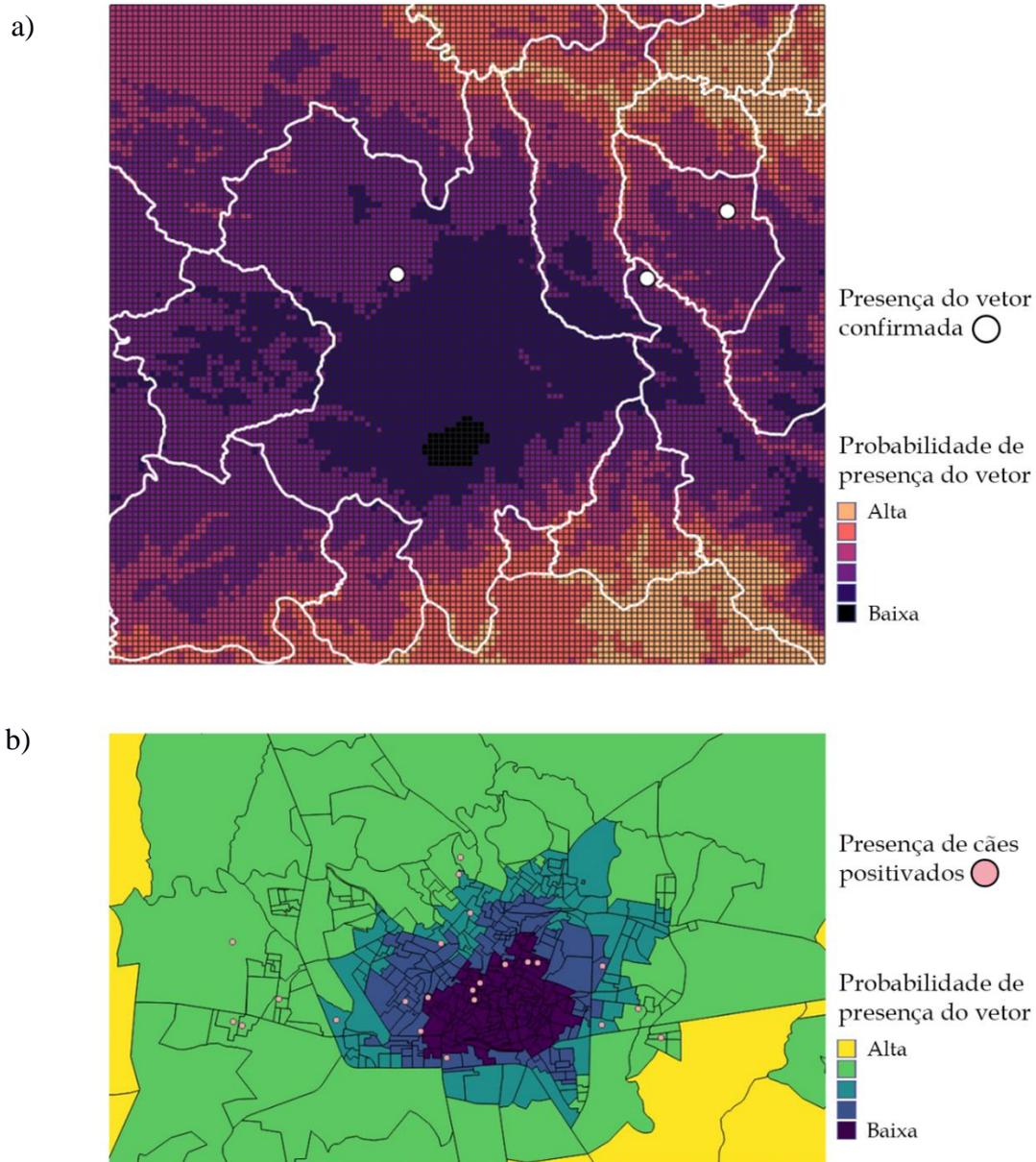


Figura 20 – (a) Mapa termográfico da susceptibilidade de nicho para *Lu. longipalpis* no município de Uberaba, Minas Gerais e municípios adjacentes. Cores mais claras representam maior probabilidade de ocorrência do inseto vetor por condições bioclimáticas favoráveis. As presenças confirmadas do vetor estão marcadas com círculos brancos. (b) A probabilidade de presença do vetor está representada por uma escala colorimétrica que representa a susceptibilidade bioclimática do vetor por setor censitário do município de Uberaba. As presenças confirmadas de cães positivos para leishmaniose estão representadas por círculos rosados. Locais de alto risco para o vetor e para doença devem considerar a proximidade destas áreas.

Fonte: Ferreira, R. G.; Silva, P. E. F. (2023).

## 6. DISCUSSÃO

O sucesso na interrupção da cadeia de transmissão de doenças infecciosas e parasitárias decorre de esforços intersetoriais. Comunidade, serviços e pesquisadores possuem condições de realizar trabalhos colaborativos no sentido de amenizar os impactos de doenças importantes, como o complexo leishmanioses. Teoricamente, a comunidade, quando bem-informada e ciente das possíveis endemias de seu município, pode e deve auxiliar na execução de tarefas básicas, tais como a manutenção das condições adequadas de higiene e limpeza. Nesse contexto, essa pesquisa buscou avaliar e compreender aspectos relacionados ao cenário ecoepidemiológico de uma área silenciosa para leishmanioses. Para essa finalidade, foram realizadas duas abordagens específicas no município de Uberaba. A primeira foi estimar possíveis casos de LV através da utilização de testes rápidos (APÊNDICE D). E a segunda, a realização de um levantamento da fauna de flebotomíneos existentes na região.

Em linhas gerais, para o inquérito epidemiológico humano, os resultados demonstraram não haver soropositividade humana dentre os indivíduos testados. Esse fato pode ser justificado por se tratar de um município silencioso e sem casos autóctones para LV humana e canina. Ademais, esses achados encontram-se em consonância com os estudos sobre sensibilidade e especificidade de testes imunocromatográficos, uma vez que não existe consenso sobre as taxas mínimas desses parâmetros em testes rápidos de diagnóstico de leishmaniose visceral. As opções disponibilizadas atualmente carecem de padronização e acurácia eficientes, não agregando, na maioria dos casos, precisão suficiente para detecção da doença.

Comorbidades como hipertensão e obesidade foram elencadas pelos participantes. Essas condições de saúde podem estar relacionadas a fatores de predisposição genética e ao próprio estilo de vida. Além disso, constituem um grande problema de saúde pública em países desenvolvidos e subdesenvolvidos (ASIRI; ASIRI; ASIRI, 2020; CASASNOVAS LENGUAS; SERRANO AÍSA; FERREIRA MONTERO, 1998; OLIVEIRA; DE MENEZES; DE OLINDA, 2017). Evidências epidemiológicas demonstram correlação entre essas duas condições de saúde, em que indivíduos com obesidade podem ser mais predispostos ao desenvolvimento de hipertensão; além disso, a presença da obesidade e da hipertensão pode aumentar consideravelmente o risco de doenças cardiovasculares (GARCÍA CASILIMAS et al., 2017; RUILOPE et al., 2018).

Transtornos de ansiedade e depressão também ganharam destaque na pesquisa e estudos demonstram que, devido ao contexto de emergência sanitária enfrentado, essas enfermidades

acometeram (e ainda acometem) boa parte dos brasileiros. Pesquisas revelam que pessoas que se mantiveram em quarentena durante o período pandêmico experimentaram níveis intensos de ansiedade, raiva, angústia, alterações de humor, insônia, irritabilidade, ansiedade e estresse. Todos esses estressores estiveram intimamente ligados às preocupações de acometimento e agravamentos de quadros clínicos causados pelo SARS-Cov-2, haja vista a alta mortalidade presenciada entre 2019 e 2021 (BARROS et al., 2020; BROOKS et al., 2020; DE BONI et al., 2020; RUBIN; WESSELY, 2020; SALARI et al., 2020; ZHANG et al., 2021).

Levando em consideração a condição epidemiológica da leishmaniose visceral do município de Uberaba, observa-se que a doença não se estabelece em seres humanos. Na maioria dos mapas de distribuição de casos de LV humana no país, constata-se a existência de áreas cuja doença não se instala de forma duradoura. Há de se pensar em justificativas que forneçam subsídios para a compreensão do papel das condições ambientais na dinâmica de transmissão das doenças vetoriais. Nessa lógica, a Biomimética – ciência que busca em conteúdo da natureza inspiração e soluções otimizadas para diferentes áreas do conhecimento –, poderia explicar como os fatores naturais como as condições climáticas, os níveis de habitat, as condições sociais e temporais podem estar relacionados ao modo como a doença não se expande em áreas silenciosas. Esses parâmetros nos levam a refletir, por exemplo, como o *fitness* (ou sucesso reprodutivo) dos flebotomíneos podem estar associados à manutenção das leishmanioses no país. Um artigo publicado por Silva et al. (2022) traz a perspectiva da biomimética no contexto da LV no Brasil (APÊNDICE E) (SILVA et al., 2022). Como campo promissor, Gebeshuber (2022) ressalta que a biomimética possui inerente inter e transdisciplinaridade e boa parte das pesquisas que utilizam tal abordagem resultam em produtos e processos altamente sustentáveis. A própria natureza fornece um vislumbre do que pode ser feito, fornecendo soluções alcançáveis, biointeligentes (GEBESHUBER, 2022).

No que se refere à cadeia de transmissão da LV, cães domésticos são considerados reservatórios importantes para o protozoário (CARVALHO et al., 2018; LAINSON, 2010; MARCONDES; DAY, 2019). Estudos recentes sugerem que gatos também podem atuar como reservatórios primários e/ou secundários na transmissão da *Leishmania* spp., uma vez que a leishmaniose felina vêm sendo relatada com frequência em diferentes localidades (ABRAMO et al., 2021; ASFARAM; FAKHAR; TESHNIZI, 2019; CARNEIRO et al., 2020; METZDORF et al., 2017; NASCIMENTO et al., 2022; ROCHA et al., 2019; SOARES; DUARTE; SOUSA, 2016). Diante do exposto, ainda que Uberaba não tenha casos autóctones de LV canina/felina, torna-se importante identificar todos os elos da cadeia de transmissão com proposição de abordagens

efetivas de controle concentradas nos vetores e nos reservatórios domésticos. Dessa forma, dados do CCZ evidenciaram a presença de cães (não autóctones) em tratamento para LV no município. A eutanásia de cães soropositivos é uma política pública recomendada e um tema densamente discutido no Brasil que apresenta controvérsias sobre o insucesso dessa abordagem bem como os aspectos éticos envolvidos (COSTA, 2011; DANTAS-TORRES et al., 2019; PESSOA-E-SILVA et al., 2019; SOUSA-PAULA et al., 2019; TRAVI et al., 2018). Diante desse desafio, novas estratégias vêm sendo implementadas, como o caso das coleiras caninas impregnadas com piretroides, cujo objetivo é reduzir a infecção em humanos e, principalmente, o contato entre vetor-reservatório canino (COURTENAY et al., 2019a; GAVGANI et al., 2002; LEITE et al., 2018). É importante ressaltar que outros mamíferos silvestres também poderão fazer parte do elo de transmissão, servindo de fonte de infecção caso haja vetores suscetíveis em áreas peridomésticas.

Considerando ainda os fatores de risco peridomiciliares, a literatura demonstra diversas condições tanto ambientais quanto domiciliares que são capazes de influenciar a ocorrência e a manutenção dos vetores. É avaliado a presença de vegetação, quintal, lixo, entulho, folhas ou frutos, sombreamento por vegetação, matéria orgânica, tipos de plantação, árvores frutíferas, cursos d'água, outros insetos hematófagos, roedores, animais (cão, gato, galinha etc.) e galinheiro (APARICIO; BITENCOURT, 2004; ELNAIEM et al., 2003; FORATTINI; RABELLO; GALATI, 1976; MARZOCHI et al., 2009; MENEZES et al., 2016; OCAMPO et al., 2012).

Em consonância com esses estudos, nossa pesquisa encontrou ambientes similares (tanto no inquérito epidemiológico humano quanto nas coletas sistematizadas), como quintais contendo matéria orgânica acumulada, utilização de esterco para adubagem de hortas e árvores frutíferas; presença de quintais com entulho ou lixo acumulado, presença de galinheiros e de outros animais domésticos (cães e gatos); fatores esses que são amplamente considerados como fontes de alimentação para larvas de flebotomíneos, desempenhando, segundo Coura-Vital (2013), papel importante da sobrevivência de inúmeros vetores no peridomicílio (COURA-VITAL et al., 2013; FELICIANGELI, 2004; KILLICK-KENDRICK, 1999).

Comumente, além da presença de animais, a presença de vegetação condicionará o desenvolvimento dos flebotomíneos. Áreas com cultivos de árvores frutíferas, como bananeiras e mangueiras, estarão intimamente relacionadas à presença, à manutenção e à densidade vetorial. Nesses locais, geralmente, além de áreas sombreadas, o solo é enriquecido de matéria orgânica nitrogenada, o que, conseqüentemente favorecerá a alimentação dos diferentes estágios de vida (JERALDO et al., 2012; POCHÉ et al., 2017; SOUZA et al., 2002). Um dos pontos fundamentais

desta pesquisa foi a possibilidade de compreender, a partir de autorrelatos, a percepção dos indivíduos e o conhecimento (ou a falta dele) sobre a leishmaniose visceral. Percepções semelhantes são apresentadas na literatura, inclusive em um estudo na cidade de Uberlândia, área de transmissão esporádica da doença, localizada a 99,28 km de Uberaba (CARMO; LUZ; BEVILACQUA, 2016; GOVIL et al., 2018; LIMONGI et al., 2021; MARGONARI et al., 2006). No que diz respeito às atitudes e práticas concernentes às leishmanioses, Limongi et al. (2021), condutores do estudo no município de Uberlândia, revelaram que o conhecimento sobre LV é bastante limitado, inclusive em seu nível mais básico. O estudo revelou ainda que 29,9% da população pesquisada possuía bons conhecimentos acerca da doença e 5,2% atitudes adequadas frente à prevenção. Houve predomínio de melhores práticas e conhecimento entre indivíduos do sexo feminino que coabitavam com animais de estimação, com maior escolaridade e maior renda (LIMONGI et al., 2021).

De fato, em determinados locais, sabe-se muito pouco sobre as principais características dessa antroponose (BORGES et al., 2008; DE AMORIM et al., 2015; DEWASURENDRA et al., 2022; KHAN et al., 2021; MARGONARI et al., 2020; MOUNIA et al., 2022; REIS et al., 2006; SARKARI; QASEM; SHAFAF, 2014; SRINIVASAN et al., 2018). Lacunas de conhecimentos sobre a biologia do vetor – haja vista sua relevância na expansão da doença – pôde ser observada durante as visitas nos domicílios. Trata-se, portanto, de um inseto que requer condições peculiares para desenvolvimento e sobrevivência, necessitando de acúmulo de matéria orgânica, baixa luminosidade e alta umidade. Borges e col. (2008) demonstram em seu estudo que o conhecimento acerca das leishmanioses em Belo Horizonte é considerado superficial. Além disso, no que diz respeito às atitudes preventivas, pode-se dizer que são inespecíficas (BORGES et al., 2008).

A aquisição de conhecimento acerca de diferentes doenças bem como o seu modo de prevenção permitem à comunidade envolvida uma ampliação da visão crítica e reflexiva, melhorando diretamente possíveis adesões e participações de programas de controle (DE CARVALHO et al., 2021; REIS et al., 2006). De fato, segundo a OMS, a educação em saúde é crucial para o enfrentamento de surtos e controle bem-sucedido do complexo leishmanioses (REIS et al., 2006; WHO, 2010). Logo, esta pesquisa revela que, além de necessário melhorar a compreensão da comunidade sobre a LV, é importante reforçar as medidas de prevenção e controle existentes em Uberaba e ainda utilizar as mídias em detrimento de informes epidemiológicos e lançamento de programas sociais envolvendo não só as leishmanioses, mas também todas as Doenças Tropicais Negligenciadas.

Flebotomíneos são insetos frequentemente encontrados em ecótopos específicos, como tronco de árvores, serrapilheira, fendas de rochas e tocas de animais. Descrições da fauna e do comportamento de espécies é objeto de muitos estudos, sobretudo àquelas que possuem importância médica comprovada. Algumas espécies encontram-se bem adaptadas ao ambiente urbano, principalmente se esses ambientes forem abrigos de animais domésticos em ambientes peridomiciliares. Assim, para compreender a epidemiologia acerca das leishmanioses, é necessário abarcar aspectos relacionados à diversidade entomológica local, às condições climáticas da região e ainda à capacidade e à competência vetorial dos flebotomíneos. Nessa lógica, a fim de compreender os aspectos ecoepidemiológicos da fauna de flebotomíneos, realizamos coletas sistematizadas em ambiente peridomicílio em pontos pré-definidos no município de Uberaba.

De acordo com Gradoni (2018), as leishmanioses são consideradas um grande problema de saúde pública com eventos ecoepidemiológicos complexos e específicos. Modificações ambientais, ações humanas de desmatamento e movimentos migratórios influenciam diretamente na dispersão de vetores e transmissão de doenças (GRADONI, 2018).

Embora classificada como área silenciosa para LV, nossos resultados revelaram que a complexidade do ecossistema urbano do município de Uberaba poderá gerar no futuro ambientes que favoreçam a multiplicação de espécies de flebotomíneos. Essa premissa pode ser justificada pela coleta de sete espécimes pertencentes a dois gêneros diferentes, denotando discreta diversidade de espécies. Não há trabalhos publicados evidenciando a fauna flebotomínica no município, sendo, portanto, estudada pela primeira vez. Assim sendo, vale realçar que os flebotomíneos aqui capturados são vetores comprovados ou suspeitos na transmissão da doença (CAPUCCI et al., 2023; CARVALHO et al., 2008; LAINSON; RANGEL, 2005; LOPES et al., 2019; NASCIMENTO et al., 2007; ROSA et al., 2022).

No que se refere às condições climáticas, relatos na literatura demonstram que variáveis climáticas, como temperatura, precipitação e umidade relativa do ar, podem influenciar a dinâmica de distribuição das populações de flebotomíneos (BARATA et al., 2004; CHEGHABALAKI et al., [s.d.]; MICHALSKY et al., 2011; TALBI et al., 2020). Barata al. (2004) sugerem que os padrões de distribuições de chuvas estão intimamente ligados à sazonalidade desses vetores. No entanto, em demasiada condição de precipitações pluviométricas, reproduções em níveis de solo poderão ser atingidas (BARATA et al., 2004; SIRLEY, 2017; TARALLO et al., 2010). Essas evidências corroboram parcialmente com os espécimes coletados nessa pesquisa, em que, nos períodos entre dezembro/2021 e fevereiro/2022, a precipitação no município de Uberaba variou entre 167,8 e

343,8 mm, compreendendo um período marcado por chuvas intensas. O mesmo pode ser atribuído à umidade relativa do ar, que variou entre 79,21 e 83,76% no mesmo período. Apesar disso, embora tais variáveis climáticas interfiram na manutenção dos flebotomíneos na natureza, não foi possível estabelecer esta correlação devido a quantidade de flebotomíneos capturados durante o período de coleta.

Sob outra perspectiva, para cada localização geográfica, tais padrões poderão sofrer modificações, como é o caso relatado no estudo de Szelag et al. (2018), em que os autores descreveram os efeitos das modificações antrópicas em populações de flebotomíneos na biorregião do Chaco, Argentina. As sub-regiões retratadas no estudo (Chaco Seco e Chaco Úmido) evidenciaram a presença abundante do vetor; além disso, ambas possuíam condições climáticas bem definidas. Curiosamente, o maior número de espécimes coletados foi justamente no Chaco Seco, contendo maior abundância, diversidade e equitabilidade de flebotomíneos (SZELAG et al., 2018). De modo geral, no que tange às condições climáticas, pode-se dizer que a fauna de flebotomíneos encontra-se melhor adaptada em lugares que apresentam pouca luminosidade e maior umidade, bem como locais com baixa intensidade de vento (CASAGRANDE, 2018; SILVA et al., 2007).

Com relação às espécies capturadas, tanto *Lu. longipalpis* quanto o complexo *cortelezzii* (*Ev. sallesi* e/ou *Ev. cortelezzii*) são vetores confirmados e/ou suspeitos no ciclo de transmissão das leishmanioses (ALEXANDRE et al., 2020; CAPUCCI et al., 2023; CUTOLO et al., 2014; LAINSON; RANGEL, 2005; SALOMON, 2021; SERRA E MEIRA et al., 2022; SZELAG et al., 2021). Rosa et al. (2022) encontraram fêmeas do complexo *cortelezzii* infectadas naturalmente com *L. braziliensis* na província do Chaco, Argentina (ROSA et al., 2022) e Saraiva et al. (2010) encontraram ambas as espécies infectadas em Belo Horizonte, Brasil (SARAIVA et al., 2010). Outros trabalhos brasileiros demonstram a infecção natural por *Leishmania* spp. no complexo *cortelezzii* (LANA et al., 2015, 2018; LARA-SILVA et al., 2015; SARAIVA et al., 2010). A fêmea de *Lu. longipalpis* é considerada o principal vetor para *L. infantum* na América Latina, contribuindo para a expansão da LV; essa espécie encontra-se bem adaptada ao ambiente urbano e aos processos de antropização (BAUZER et al., 2007, 2007; GONZÁLEZ et al., 2019; MENDONÇA et al., 2020; SALOMON, 2021; SILVA et al., 2007; SOUSA-PAULA; OTRANTO; DANTAS-TORRES, 2020).

Embora em menor quantidade, soma-se a esses fatores os resultados encontrados nesse estudo acerca da presença de *Lu. longipalpis* nos ambientes peridomiciliares. Nesses locais, havia presença de animais domésticos (cães e gatos), criação de galinhas e quintal com presença de

matéria orgânica acumulada (árvores frutíferas e serrapilheiras), configurando-se, portanto, em nichos específicos que corroboram com a manutenção do ciclo de vida do vetor. Nas pesquisas entomológicas realizadas por Dias et al. (2007) e Monteiro et al. (2005), observou-se *Lu. longipalpis* como espécie dominante no norte do estado de Minas Gerais (DIAS et al., 2007; MONTEIRO et al., 2005).

Em relação à infecção natural por *Leishmania* spp. das fêmeas capturadas, foi realizada PCR para detecção de DNA do parasito. Nossos resultados, por sua vez, demonstraram que não houve infecção nas amostras individuais testadas. Pode-se dizer que esses resultados são concordantes com dados presentes na literatura envolvendo a taxa da infecção natural do vetor por *Leishmania* spp. Observam-se índices baixos de infecção natural, inclusive em áreas endêmicas, variando entre 0,2% e 3,9%, (DE PITA-PEREIRA et al., 2008; MARCONDES et al., 2009; MICHALSKY et al., 2011; MOTA et al., 2019; SARAIVA et al., 2009; SOARES et al., 2010). Oliveira-Pereira et al. (2016) demonstraram em seu estudo taxa de infecção natural de 0,4% (OLIVEIRA-PEREIRA et al., 2006). Um estudo conduzido por Casanova et al. (2022) em Guarujá/SP evidenciou uma taxa de infecção por *L. infantum* variando entre 0,6% e 1,4% (CASANOVA et al., 2022). A detecção e a identificação do agente etiológico são imprescindíveis em estudos epidemiológicos que visam compreender a espécie do protozoário circulante no município.

É fundamental ressaltar que, segundo Killick-Kendrick (1990), uma espécie só poderá ser confirmada como vetora das leishmanioses se ela atender diferentes critérios sugeridos. E esses critérios foram classificados como essenciais e complementares. São os essenciais: 1) antropofilia; 2) distribuição espacial em concordância com a ocorrência dos casos de infecção humana; 3) infecção natural por parasitos, identificados como pertencentes à mesma espécie de *Leishmania* que infecta o homem; e 4) atração por mamíferos considerados reservatórios de *Leishmania* spp. São critérios complementares: 1) os exemplares experimentalmente infectados com o parasito devem manter, em condições laboratoriais, todas as etapas de desenvolvimento parasitário; e 2) a prova conclusiva de incriminação vetorial consistirá na capacidade de os flebotomíneos se infectarem e transmitirem o parasito, através da picada, de hamster para hamster (BRASIL, 2010; KILLICK-KENDRICK, 1990).

Ready (2013) propôs em sua pesquisa a atualização de dois novos itens que poderiam complementar os propostos por Killick-Kendrick: 1) utilização de dados retrospectivos e modelagens matemáticas que demonstrem que o vetor é essencial na manutenção da transmissão com ou sem o envolvimento de outros vetores; e 2) utilização de modelagens matemáticas

evidenciando que a incidência da doença pode diminuir significativamente após diminuição na densidade de flebotomíneos específicos (READY, 2013).

Considerando a diversidade de dípteros capturados durante a coleta, dados da literatura evidenciam diferentes vetores que possuem importância no contexto da saúde pública. Essa premissa valida nossos achados na coleta sistematizada, uma vez que, além dos exemplares de flebotomíneos capturados, famílias de Culicidae, Ceratopogonidae, Chironomidae etc. estiveram presentes. No Brasil, dípteros hematófagos da família Ceratopogonidae são conhecidos popularmente como mosquito-pólvora, mosquitinho de mangue ou maruins e pertencem aos gêneros, *Lasiohelea*, *Leptoconops*, *Forcipomyia* e *Culicoides*. O gênero *Culicoides* tem distribuição cosmopolita e algumas espécies desse gênero são vetores de protozoários e vermes filarioides, infectando aves, seres humanos e outros animais.

De acordo com Trindade; Gorayeb (2005), o vírus Oropouche foi encontrado em *Culicoides paraensis* na região Amazônica e essa espécie também é incriminada de transmitir *Mansonella ozzardi* em seres humanos na Argentina (NARAYANAN KUTTY et al., 2018; ROSA, 2021; SHELLEY; COSCARÓN, 2001; TRAVASSOS DA ROSA et al., 2017; TRINDADE; GORAYEB, 2005). Ademais, algumas espécies de *Culicoides* podem estar envolvidas na transmissão da *Leishmania* spp. É o que revelam estudos realizados por Rêbello et al. (2016), no qual foi relatada a presença de DNA de *Leishmania* em *Culicoides* pela primeira vez no Brasil. Outros estudos detectaram DNA de *L. braziliensis* nas espécies *C. foxi*; *C. ignacioi* e *C. insignis*. Material genético de *L. amazonensis* foi detectado em *C. filariferus* e *C. flavivenulus*. Ambas as Leishmânias são notadamente reconhecidas por provocarem a leishmaniose tegumentar (AKHOUNDI et al., 2016; REBÊLO et al., 2016; SEBLOVA et al., 2012, 2015; SLAMA et al., 2014; SUNANTARAPORN et al., 2021). Becvar et al. (2021) revelam em seu estudo experimental a transmissão do parasito *Leishmania* do subgênero *Mundinia* por ceratopogonídeos. Esse subgênero foi recentemente estabelecido, possui ampla distribuição geográfica e cinco espécies já descritas; três delas possuem potencial para causar a doença em seres humanos. Assim, investigou-se o desenvolvimento da infecção em camundongos utilizando parasitos do subgênero *Mundinia* e o vetor *Culicoides sonorensis* (Diptera: Ceratopogonidae). Os resultados evidenciaram presença de DNA de *Leishmania*, com alta taxa de infecção nos modelos experimentais (BECVAR et al., 2021).

Culicídeos estão envolvidos na transmissão de patógenos que causam doenças graves em inúmeras espécies de animais e seres humanos, como malária, filariose, febre amarela, dengue, zika e chikungunya. Possuem diferentes habitats e estão amplamente distribuídos no mundo. São

exemplos de culicídeos *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, *Culex pipiens* e *Culex quinquefasciatus* (DE ALMEIDA et al., 2021; GONZÁLEZ; LOPEZ; ALARCÓN-ELBAL, 2015; SILVÉRIO et al., 2020; SUESDEK, 2019). Não há relatos na literatura de detecção de DNA de *Leishmania* em culicídeos e transmissão das leishmanioses por esses vetores.

Considerando que os fatores climáticos influenciam diretamente a biologia e o comportamento dos flebotomíneos, a ocorrência dos casos humanos e caninos dependerão, dentre inúmeros fatores, da distribuição de vetores infectados por *Leishmania*. Assim, como demonstrado nos mapas termográficos, a presença de cães positivos para leishmaniose no município de Uberaba representa áreas de alto risco, uma vez que flebotomíneos foram encontrados em proximidades dessas áreas. Além disso, de acordo com os dados obtidos do modelo de susceptibilidade de nicho para *Lu. longipalpis*, os valores médios de temperatura anual média e precipitação parecem contribuir para possível estabelecimento do vetor. No entanto, embora seja sugerido maior presença do vetor nas condições climáticas mencionadas, é importante ressaltar que Uberaba além de apresentar clima savânico, possui estações chuvosas e secas bem delimitadas, com clima relativamente quente todos os meses do ano. Esses resultados estão em consonância com dados presentes na literatura que sugerem probabilidades aumentadas de vetores durante períodos chuvosos com precipitação ligeiramente aumentada (ABDEL-DAYEM et al., 2012; ABEDI-ASTANEH et al., 2016; ALI HANAFI-BOJD et al., 2015; CHAVY et al., 2019; KARUNAWEEERA et al., 2021).

De modo geral, ambientes com temperaturas mais amenas proporcionam melhores condições para *Lu. longipalpis*, a modelagem para essa espécie revela que as variáveis que mais influenciaram sua distribuição foram a temperatura média anual e a precipitação anual com maior relevância que a elevação do relevo. Curiosamente, observou-se em nosso estudo que em localidades de altitudes menores, a presença do vetor fica comprometida. Estudos envolvendo essa temática corroboram os resultados encontrados (CAMPOS et al., 2020; DE ALMEIDA et al., 2022; DÍAZ-SÁEZ et al., 2021; FERREIRA et al., 2001; FILHO et al., 2021; MICHELUTTI et al., 2021; ORTIZ et al., 2019; URSINE et al., 2023). Nessa perspectiva, flebotomíneos podem ocorrer em menor ou maior abundância em diferentes épocas do ano a depender das condições climáticas de cada mesorregião. Considerar as peculiaridades regionais bem como propor trabalhos de monitoramento e predição de riscos parece ser uma medida promissora em áreas que possuam diferentes perfis de transmissão e endemicidade.

Finalmente, observa-se que no município de Uberaba o vetor vem realizando tentativas de colonização. No entanto, essa entrada e esse estabelecimento não têm sido bem-sucedidos e até a presente data o município se mantém como área sem casos autóctones de LV humana e canina. O sucesso de um vetor dependerá de fatores ambientais e climatológicos, ou seja, condições climáticas favoráveis para o desenvolvimento do seu ciclo e de sua disponibilidade de fontes de alimentação. Questões socioeconômicas também interferirão no seu sucesso, principalmente se houver condições de moradias instáveis e ambientes sem saneamento básico. Por esse motivo, todas as questões socioeconômicas sempre estarão à cargo do estado, que deverá garantir os determinantes e condicionantes da saúde, como saneamento básico, educação, moradia, alimentação e acesso a bens e serviços essenciais. Além disso, não se pode descartar a presença de reservatórios em tratamento no município que, mesmo não sendo autóctones da área, são considerados fontes de infecção para os flebotomíneos. De modo geral, o vetor será sempre a peça-chave em doenças zoonóticas.

Pensar o processo de urbanização das leishmanioses no Brasil a partir da premissa da biomimética pode ser fundamental na elaboração de estratégias de prevenção e controle dessa doença. Depreende-se dos dados apresentados na presente pesquisa que as diferenças físico-naturais encontradas em Uberaba denotam à inexistência de associação direta entre os efeitos desses aspectos na dinâmica de endemicidade da LV. Acredita-se que a combinação de diferentes fatores pode determinar a instalação-disseminação ou a limitação da transmissão das leishmanioses. O conhecimento em maior nível de detalhe (em escala local) desses aspectos podem auxiliar na definição de melhores formas de conter a progressão das leishmanioses, a partir de proposição de medidas de controles sustentáveis e aplicáveis em cada situação. A reflexão acerca da biomimética pode trazer novos direcionamentos para áreas vulneráveis/receptivas. Friuli et al., (2022) ressalta que o campo da biomimética parece ser promissor em abordagens de controle vetoriais. Os autores se inspiraram em princípios biomiméticos e desenvolveram novos substratos (à base de hidrogéis macromoleculares) capazes de atrair seletivamente insetos da espécie *Aedes albopictus*. Tal substrato reproduz condições ambientais naturais específicas, denominado “isca biomimética” que atrai o inseto e em seguida o mata, funcionando, portanto, como um biopesticida natural (FRIULI et al., 2022). O estudo de Bergmann et al. (2022), realça a interação entre plantas e animais e a infinidade de propriedades funcionais que esses elementos podem oferecer. As folhas das plantas, por exemplo, demonstram a capacidade da natureza na criação de materiais eficientes capazes de reduzir a fixação de insetos. É o caso da espécie vegetal *Litchi chinensis* que desenvolveu, ao longo

do processo evolutivo, superfície com diferentes graus de rugosidade, dificultando a atividade dos insetos (BERGMANN et al., 2022; GISINGER; GEBESHUBER, 2022).

Nossa pesquisa reforça que medidas de vigilância e controle serão imprescindíveis no contexto das leishmanioses em Uberaba. Assim, mesmo com os resultados importantes aqui evidenciados, a proposição de maior número de pontos, armadilhas e períodos de coletas serão fundamentais em pesquisas futuras. Entendemos que a coleta sistematizada proposta nesta tese foi indispensável para o êxito no reforço das medidas de prevenção e controle existentes e antecipação de soluções frente a surtos da doença no futuro. O trabalho colaborativo entre instituições de ensino superior, serviço municipal/estadual e a comunidade é determinante para que doenças como as leishmanioses sejam compreendidas e corretamente manejadas.

## 7. CONCLUSÃO

Apesar dos esforços governamentais em inserir medidas de prevenção e controle em áreas endêmicas e iniciativas conjuntas para o fortalecimento de ações, observa-se que a incidência da doença vem sofrendo aumento discreto com o passar dos anos. As leishmanioses estão inseridas entre as Doenças Tropicais Negligenciadas (DTN), ou seja, são negligenciadas porque afetam, sobretudo, populações menos favorecidas, marginalizadas em locais que possuem recursos escassos.

A abordagem de doenças como o caso das leishmanioses exige esforços intersetoriais, multidisciplinares e colaborativos de todos os sistemas de saúde humana, já que apresentam caráter zoonótico com coabitação de seres humanos e animais (cães ou gatos) infectados com o parasito *Leishmania* numa mesma residência. Nossos resultados demonstraram que o monitoramento entomológico é fundamental para que as medidas de prevenção e de controle sejam realizadas adequadamente já que modificações ambientais e climáticas estarão intimamente ligadas à densidade vetorial e esse trabalho configura-se na primeira coleta sistematizada com duração completa de 12 meses.

Além disso, trabalhos como este são capazes de antecipar possíveis surtos da doença, atuando como sentinelas, evidenciando áreas prováveis de risco de infecção e estabelecimento pleno dos flebotomíneos. A presença da espécie *Lu. longipalpis* demonstra a sua adaptação à ambientes recentemente antropizados e consequentemente a urbanização do agravo no município.

Nossos resultados demonstram ainda que Uberaba apresenta características necessárias que propiciam a expansão urbanização do problema LV.

Com os achados desta pesquisa, pode-se afirmar que Uberaba passa de área silenciosa para área vulnerável para LV ou área receptiva, uma vez que atendemos um ou mais critérios estabelecidos no manual de vigilância e controle da LV, que propõe como área vulnerável a presença municípios contíguos aos municípios com casos de LV, com fluxo migratório intenso, fazendo parte de um mesmo eixo viário dos municípios com casos de LV e presença de *Lu. longipalpis* após realização de coleta entomológica sistematizada.

No que concerne às limitações encontradas, de modo geral, pesquisas envolvendo flebotomíneos são geralmente conduzidas em diferentes contextos ambientais e sazonais com particularidades inerentes à cada região. Dados da literatura demonstraram variadas metodologias de captura e em todas elas poderão ser encontradas barreiras intrínsecas principalmente em capturas utilizando fontes luminosas. Limitações acerca de vieses de informação também devem ser ressaltadas; é possível que respostas obtidas a partir de questionários denotem uma intenção dos pesquisados em responder positivamente o que é esperado pelo pesquisador, não sendo possível afirmar categoricamente o que o respondedor esteja pensando acerca da questão elaborada.

## 8. REFERÊNCIAS

- ABDEL-DAYEM, M. S. et al. The Potential Distribution of *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae) in Libya Based on Ecological Niche Model. **Journal of Medical Entomology**, v. 49, n. 3, p. 739–745, 1 maio 2012.
- ABEDI-ASTANEH, F. et al. Risk Mapping and Situational Analysis of Cutaneous Leishmaniasis in an Endemic Area of Central Iran: A GIS-Based Survey. **PLOS ONE**, v. 11, n. 8, p. e0161317, 30 ago. 2016.
- ABRAMO, F. et al. Skin Lesions in Feline Leishmaniosis: A Systematic Review. **Pathogens (Basel, Switzerland)**, v. 10, n. 4, p. 472, 13 abr. 2021.
- AGUIAR, G.; RENDEIRO, V. Regional Distribution and Habitats of Brazilian Phlebotomine Species. Em: **Brazilian Sand Flies: Biology, Taxonomy, Medical Importance and Control**. [s.l.: s.n.]. p. 251–298.
- AKHOUNDI, M. et al. A Historical Overview of the Classification, Evolution, and Dispersion of Leishmania Parasites and Sandflies. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 3, p. e0004349, 3 mar. 2016.

- AKHOUNDI, M. et al. Leishmania infections: Molecular targets and diagnosis. **Molecular Aspects of Medicine**, Leishmania Infections: Molecular Targets and Diagnosis. v. 57, p. 1–29, 1 out. 2017.
- ALEXANDER, B. et al. Susceptibility to chemical insecticides of two Brazilian populations of the visceral leishmaniasis vector *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). **Tropical medicine & international health: TM & IH**, v. 14, n. 10, p. 1272–1277, out. 2009.
- ALEXANDER, B.; MAROLI, M. Control of phlebotomine sandflies. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 17, n. 1, p. 1–18, mar. 2003.
- ALEXANDRE, J. et al. Experimental infections and co-infections with *Leishmania braziliensis* and *Leishmania infantum* in two sand fly species, *Lutzomyia migonei* and *Lutzomyia longipalpis*. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 3566, 27 fev. 2020.
- ALI HANAFI-BOJD, A. et al. Modeling the Distribution of Cutaneous Leishmaniasis Vectors (Psychodidae: Phlebotominae) in Iran: A Potential Transmission in Disease Prone Areas. **Journal of Medical Entomology**, v. 52, n. 4, p. 557–565, 1 jul. 2015.
- ALMEIDA, A. P. et al. The spread of visceral leishmaniasis in Brazil: the first canine cases described in Ji-Paraná, Rondônia, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 30, 29 nov. 2021.
- ALTEN, B. et al. Seasonal Dynamics of Phlebotomine Sand Fly Species Proven Vectors of Mediterranean Leishmaniasis Caused by *Leishmania infantum*. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 10, n. 2, p. e0004458, fev. 2016.
- ÁLVAREZ-HERNÁNDEZ, D.-A. et al. Overcoming the global burden of neglected tropical diseases. **Therapeutic Advances in Infectious Disease**, v. 7, p. 2049936120966449, 19 out. 2020.
- ANVERSA, L. et al. Human leishmaniasis in Brazil: A general review. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 64, p. 281–289, mar. 2018.
- APARICIO, C.; BITENCOURT, M. D. Modelagem espacial de zonas de risco da leishmaniose tegumentar americana. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, p. 511–516, ago. 2004.
- ARAÚJO-PEREIRA, T. DE et al. Molecular diagnosis of cutaneous leishmaniasis in an endemic area of Acre State in the Amazonian Region of Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 51, p. 376–381, jun. 2018.
- ARAÚJO-PEREIRA, T. DE et al. An overview of the sandfly fauna (Diptera: Psychodidae) followed by the detection of *Leishmania* DNA and blood meal identification in the state of Acre, Amazonian Brazil. **Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 115, p. e200157, 2020.
- ASFARAM, S.; FAKHAR, M.; TESHNIZI, S. H. Is the cat an important reservoir host for visceral leishmaniasis? A systematic review with meta-analysis. **The Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, v. 25, p. e20190012, 2019.
- ASIRI, A. A.; ASIRI, S.; ASIRI, H. Knowledge Related to Hypertension Risk Factors, Diet, and Lifestyle Modification: A Comparative Study Between Hypertensive and Non-Hypertensive Individuals. **Cureus**, v. 12, n. 8, p. e9890, 2020.

- BALASKA, S. et al. Chemical control and insecticide resistance status of sand fly vectors worldwide. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 15, n. 8, p. e0009586, ago. 2021.
- BARATA, R. A. et al. Phlebotomine sand flies in Porteirinha, an area of American visceral leishmaniasis transmission in the State of Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, p. 481–487, ago. 2004.
- BARRAL, A. et al. Leishmaniasis in Bahia, Brazil: evidence that *Leishmania amazonensis* produces a wide spectrum of clinical disease. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 44, n. 5, p. 536–546, maio 1991.
- BARROS, M. B. DE A. et al. Report on sadness/depression, nervousness/anxiety and sleep problems in the Brazilian adult population during the COVID-19 pandemic. **Epidemiologia E Servicos De Saude: Revista Do Sistema Unico De Saude Do Brasil**, v. 29, n. 4, p. e2020427, 2020.
- BATES, P. A. et al. Recent advances in phlebotomine sand fly research related to leishmaniasis control. **Parasites & Vectors**, v. 8, p. 131, 27 fev. 2015.
- BATISTA, L. R. **Leishmaniose Visceral canina em Uberaba, Minas Gerais**. Tese (Doutorado em Medicina Tropical e Infectologia) – Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2016, , 2016.
- BAUZER, L. G. S. R. et al. *Lutzomyia longipalpis* in Brazil: a complex or a single species? A mini-review. **Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, n. 1, p. 1–12, fev. 2007.
- BECVAR, T. et al. Experimental transmission of *Leishmania* (*Mundinia*) parasites by biting midges (Diptera: Ceratopogonidae). **PLOS Pathogens**, v. 17, n. 6, p. e1009654, 11 jun. 2021.
- BERGMANN, J. B. et al. Bio-inspired materials to control and minimise insect attachment. **Bioinspiration & Biomimetics**, v. 17, n. 5, p. 051001, out. 2022.
- BERMÚDEZ, C. et al. **Metadados da fonte: Entomologia na Amazônia brasileira Volume 2**. Disponível em: <[https://oasisbr.ibict.br/vufind/Record/INPA-2\\_5ed62e0dedd1a9acdf527a27cbb64814](https://oasisbr.ibict.br/vufind/Record/INPA-2_5ed62e0dedd1a9acdf527a27cbb64814)>. Acesso em: 7 nov. 2022.
- BERMÚDEZ, C.; GUILLERMO, E. **Lutzomyia sand flies in the Brazilian Amazon basin (Diptera: psychodidae)**. [s.l.] Editora INPA, 2009.
- BERN, C.; MAGUIRE, J. H.; ALVAR, J. Complexities of assessing the disease burden attributable to leishmaniasis. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 2, n. 10, p. e313, 2008.
- BORGES, B. K. A. et al. [Assessment of knowledge and preventive attitudes concerning visceral leishmaniasis in Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brazil]. **Cadernos De Saude Publica**, v. 24, n. 4, p. 777–784, abr. 2008.
- BRASIL. Dengue - Instruções para Pessoal de Combate ao Vetor. p. 75, 2001.

BRASIL. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde**, v. 1, n. 2, p. 180, 2010.

BRASIL. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica.** , 2014.

BRASIL. **Situação epidemiológica da Leishmaniose Visceral.** Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/l/leishmaniose-visceral/situacao-epidemiologica-da-leishmaniose-visceral>>. Acesso em: 7 nov. 2022a.

BRASIL. **Guia de Vigilância em Saúde [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde. – 5. ed. rev. e atual. – Brasília: Ministério da Saúde.** , 2022b. Disponível em: <[https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_vigilancia\\_saude\\_5ed\\_rev\\_atual.pdf](https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_saude_5ed_rev_atual.pdf)>

BRAY, D. P. et al. Synthetic sex pheromone attracts the leishmaniasis vector *Lutzomyia longipalpis* to experimental chicken sheds treated with insecticide. **Parasites & Vectors**, v. 3, n. 1, p. 16, 11 mar. 2010.

BRAY, D. P. et al. Synthetic Sex Pheromone in a Long-Lasting Lure Attracts the Visceral Leishmaniasis Vector, *Lutzomyia longipalpis*, for up to 12 Weeks in Brazil. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 3, p. e2723, 20 mar. 2014.

BROOKS, S. K. et al. The psychological impact of quarantine and how to reduce it: rapid review of the evidence. **Lancet (London, England)**, v. 395, n. 10227, p. 912–920, 14 mar. 2020.

BRUHN, F. R. P. et al. Spatial and temporal relationships between human and canine visceral leishmaniasis in Belo Horizonte, Minas Gerais, 2006–2013. **Parasites & Vectors**, v. 11, n. 1, p. 372, 28 jun. 2018.

CALDERON-ANYOSA, R. et al. Housing Characteristics and Leishmaniasis: A Systematic Review. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 99, n. 6, p. 1547–1554, dez. 2018.

CAMARGO-NEVES, V. L. F. DE; RODAS, L. A. C.; JUNIOR, C. P. **Avaliação da Efetividade da Utilização de Coleiras Impregnadas com Deltametrina a 4% para o Controle da Leishmaniose Visceral Americana no Estado de São Paulo: Resultados Preliminares.** , 2004. Disponível em: <Boletim Epidemiológico Paulista, São Paulo, v. 1, n. 12, dez. 2004.>

CAMPOS, A. M. et al. Species composition of sand flies (Diptera: Psychodidae) in caves of Quadrilátero Ferrífero, state of Minas Gerais, Brazil. **PLOS ONE**, v. 15, n. 3, p. e0220268, 10 mar. 2020.

CAPUCCI, D. C. et al. Ecology and natural infection of phlebotomine sand flies in different ecotopes and environments in the municipality of Pains, Minas Gerais, Brazil. **Acta Tropica**, v. 238, p. 106789, 1 fev. 2023.

- CARMO, R. F.; LUZ, Z. M. P. DA; BEVILACQUA, P. D. Percepções da população e de profissionais de saúde sobre a leishmaniose visceral. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 21, p. 621–628, fev. 2016.
- CARNEIRO, L. A. et al. First report on feline leishmaniasis caused by *Leishmania (Leishmania) amazonensis* in Amazonian Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 19, p. 100360, 1 jan. 2020.
- CARVALHO, A. G. DE et al. High seroprevalence and peripheral spatial distribution of visceral leishmaniasis among domestic dogs in an emerging urban focus in Central Brazil: a cross-sectional study. **Pathogens and Global Health**, v. 112, n. 1, p. 29–36, fev. 2018.
- CARVALHO, G. M. L. et al. Naturally Infected *Lutzomyia* Sand Flies in a *Leishmania*-Endemic Area of Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 8, n. 3, p. 407–414, jun. 2008.
- CASAGRANDE, B. **Biogeografia da saúde: distribuição espacial dos vetores e o complexo patogênico da leishmaniose tegumentar americana**. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/handle/11449/153978>>. Acesso em: 21 nov. 2022.
- CASANOVA, C. et al. The transmission of visceral leishmaniasis in the municipality of Guarujá, on the Coast of São Paulo state, Brazil. **Revista De Saude Publica**, v. 56, p. 1, 2022.
- CASASNOVAS LENGUAS, J. A.; SERRANO AÍSA, P. J.; FERREIRA MONTERO, I. J. [Obesity and arterial hypertension]. **Revista Espanola De Cardiologia**, v. 51 Suppl 4, p. 15–18, 1998.
- CASTELLANO, L. R. C. Resposta imune anti-*Leishmania* e mecanismos de evasão. **Vitae: Academia Biomédica Digital**, n. 25 (Outubro-Diciembre), p. 3, 2005.
- CHAPPUIS, F. et al. Visceral leishmaniasis: what are the needs for diagnosis, treatment and control? **Nature Reviews Microbiology**, v. 5, n. 11, p. 873–882, nov. 2007.
- CHAVY, A. et al. Ecological niche modelling for predicting the risk of cutaneous leishmaniasis in the Neotropical moist forest biome. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 8, p. e0007629, 14 ago. 2019.
- CHEGHABALAKI, Z. Z. et al. Spatial Dynamics of a Phlebotomine Sand Flies Population in Response to Climatic Conditions in Bushehr Province of Iran. **Annals of Global Health**, v. 85, n. 1, p. 60, [s.d.].
- COSTA, C. H. N. How effective is dog culling in controlling zoonotic visceral leishmaniasis? a critical evaluation of the science, politics and ethics behind this public health policy. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, p. 232–242, abr. 2011.
- COSTA, C. H. N.; PEREIRA, H. F.; ARAÚJO, M. V. Epidemia de leishmaniose visceral no Estado do Piauí, Brasil, 1980-1986. **Revista de Saúde Pública**, v. 24, n. 5, p. 361–372, out. 1990.
- COURA-VITAL, W. et al. Risk factors for seroconversion by *Leishmania infantum* in a cohort of dogs from an endemic area of Brazil. **PloS One**, v. 8, n. 8, p. e71833, 2013.

COURTENAY, O. et al. Insecticide-impregnated dog collars reduce infantile clinical visceral leishmaniasis under operational conditions in NW Iran: A community-wide cluster randomised trial. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 3, p. e0007193, 4 mar. 2019a.

COURTENAY, O. et al. Sand fly synthetic sex-aggregation pheromone co-located with insecticide reduces the incidence of infection in the canine reservoir of visceral leishmaniasis: A stratified cluster randomised trial. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 10, p. e0007767, 25 out. 2019b.

CRUZ, I. et al. A nested polymerase chain reaction (Ln-PCR) for diagnosing and monitoring *Leishmania infantum* infection in patients co-infected with human immunodeficiency virus. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 96 Suppl 1, p. S185-189, abr. 2002.

CUTOLO, A. A. et al. Sandflies (Diptera: Psychodidae) associated with opossum nests at urban sites in southeastern Brazil: a risk factor for urban and periurban zoonotic *Leishmania* transmission? **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 109, p. 391–393, jun. 2014.

DA-CRUZ, A. M.; PIRMEZ, C. **Leishmaniose Tegumentar Americana**. In: **COURA, J. R. Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018.

DANTAS-TORRES, F. et al. Culling Dogs for Zoonotic Visceral Leishmaniasis Control: The Wind of Change. **Trends in Parasitology**, v. 35, n. 2, p. 97–101, 1 fev. 2019.

DE ALMEIDA, J. P. et al. The virome of vector mosquitoes. **Current Opinion in Virology**, v. 49, p. 7–12, 1 ago. 2021.

DE ALMEIDA, T. M. et al. Predictive modeling of sand fly distribution incriminated in the transmission of *Leishmania (Viannia) braziliensis* and the incidence of Cutaneous Leishmaniasis in the state of Paraná, Brazil. **Acta Tropica**, v. 229, p. 106335, maio 2022.

DE AMORIM, C. F. et al. Knowledge of the Population about Visceral Leishmaniasis Transmission in Endemic Areas near the Banks of the Mossoró River in Northeastern Brazil. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 12, n. 3, p. 3343–3357, mar. 2015.

DE BONI, R. B. et al. Depression, Anxiety, and Lifestyle Among Essential Workers: A Web Survey From Brazil and Spain During the COVID-19 Pandemic. **Journal of Medical Internet Research**, v. 22, n. 10, p. e22835, 30 out. 2020.

DE CARVALHO, A. G. et al. Impact of socioeconomic status on the knowledge, attitudes, and practices about visceral leishmaniasis among dog owners. **Journal of Infection in Developing Countries**, v. 15, n. 10, p. 1523–1531, 31 out. 2021.

DE OLIVEIRA, S. S.; DE ARAÚJO, T. M. [Evaluation of control measures for visceral leishmaniasis (kala azar) in an endemic area in Bahia, Brazil (1995-2000)]. **Cadernos De Saude Publica**, v. 19, n. 6, p. 1681–1690, dez. 2003.

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, jul. 2008.

DEANE, L. M.; DEANE, M. P. Visceral leishmaniasis in Brazil: geographical distribution and transmission. **Revista Do Instituto De Medicina Tropical De Sao Paulo**, v. 4, p. 198–212, jun. 1962.

DEPAQUIT, J. Molecular systematics applied to Phlebotomine sandflies: review and perspectives. **Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases**, v. 28, p. 744–756, dez. 2014.

DEWASURENDRA, R. et al. Assessment of knowledge and perceptions on leishmaniasis: An island-wide study in Sri Lanka. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 16, n. 10, p. e0010821, 13 out. 2022.

DHIMAN, R. C.; YADAV, R. S. Insecticide resistance in phlebotomine sandflies in Southeast Asia with emphasis on the Indian subcontinent. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 5, n. 1, p. 106, 7 nov. 2016.

DIAS, E. S. et al. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) de um foco de leishmaniose tegumentar no Estado de Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, p. 49–52, fev. 2007.

DIAS, E. S. et al. Eco-epidemiology of visceral leishmaniasis in the urban area of Paracatu, state of Minas Gerais, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 176, n. 2, p. 101–111, 10 mar. 2011.

DÍAZ-SÁEZ, V. et al. Seasonal dynamics of phlebotomine sand flies and autochthonous transmission of *Leishmania infantum* in high-altitude ecosystems in southern Spain. **Acta Tropica**, v. 213, p. 105749, 1 jan. 2021.

DOS SANTOS, S. O. et al. Incrimination of *Lutzomyia cruzi* as a vector of American visceral leishmaniasis. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 12, n. 3, p. 315–317, jul. 1998.

ELNAIEM, D.-E. A. et al. Risk mapping of visceral leishmaniasis: the role of local variation in rainfall and altitude on the presence and incidence of kala-azar in eastern Sudan. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 68, n. 1, p. 10–17, jan. 2003.

ELNAIEM, D.-E. A. et al. Outdoor Residual Insecticide Spraying (ODRS), a New Approach for the Control of the Exophilic Vectors of Human Visceral Leishmaniasis: *Phlebotomus orientalis* in East Africa. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 14, n. 10, p. e0008774, 20 out. 2020.

EMBRAPA. **Bioma Cerrado - Portal Embrapa**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/cerrados/colecao-entomologica/bioma-cerrado>>. Acesso em: 3 nov. 2022.

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

FALCÃO, A. R.; PINTO, C. T.; GONTIJO, C. M. F. Susceptibility of *Lutzomyia longipalpis* to deltamethrin. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 83, p. 395–396, set. 1988.

- FARIA, A. R.; ANDRADE, H. M. DE. Diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina: grandes avanços tecnológicos e baixa aplicação prática. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 3, n. 2, p. 47–57, jun. 2012.
- FELICIANGELI, M. D. Natural breeding places of phlebotomine sandflies. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 18, n. 1, p. 71–80, mar. 2004.
- FERREIRA, A. L. et al. Distribution of sand flies (Diptera: Psychodidae) at different altitudes in an endemic region of American cutaneous leishmaniasis in the State of Espírito Santo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, p. 1061–1067, nov. 2001.
- FERREIRA, E. DE C. **Estudo dos hospedeiros de Leishmania em área de ocorrência das leishmanioses no município de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.** , 2010.
- FICK, S. E.; HIJMANS, R. J. WorldClim 2: new 1-km spatial resolution climate surfaces for global land areas. **International Journal of Climatology**, v. 37, n. 12, p. 4302–4315, 2017.
- FILHO, C. R. C. U. et al. Autochthonous case of Canine Visceral Leishmaniasis and presence of sand flies in a high altitude area. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 15, n. 1, 2021.
- FORATTINI, O. P.; RABELLO, E. X.; GALATI, E. A. B. Novos encontros de flebotomíneos no Estado de São Paulo, Brasil, com especial referência à *Lutzomyia longipalpis*. **Revista de Saúde Pública**, v. 10, p. 125–128, mar. 1976.
- FRAGA, D. B. M. et al. The Rapid Test Based on *Leishmania infantum* Chimeric rK28 Protein Improves the Diagnosis of Canine Visceral Leishmaniasis by Reducing the Detection of False-Positive Dogs. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 1, p. e0004333, 5 jan. 2016.
- FRIULI, M. et al. From tissue engineering to mosquitoes: biopolymers as tools for developing a novel biomimetic approach to pest management/vector control. **Parasites & Vectors**, v. 15, n. 1, p. 79, 5 mar. 2022.
- GALATI, E. Morfologia e terminologia de Phlebotominae (Diptera: Psychodidae). Classificação e identificação de táxons das Américas. Vol I. p. 133, 2021.
- GALATI, E. A. B. et al. Estudo de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em foco de leishmaniose visceral no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 31, p. 378–390, ago. 1997.
- GÁLVEZ, R. et al. Controlling phlebotomine sand flies to prevent canine *Leishmania infantum* infection: A case of knowing your enemy. **Research in Veterinary Science**, v. 121, p. 94–103, dez. 2018.
- GARCÍA CASILIMAS, G. A. et al. [Pathophysiology of hypertension secondary to obesity]. **Archivos De Cardiologia De Mexico**, v. 87, n. 4, p. 336–344, dez. 2017.
- GARCIA, L. et al. Culture-Independent Species Typing of Neotropical *Leishmania* for Clinical Validation of a PCR-Based Assay Targeting Heat Shock Protein 70 Genes. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 5, p. 2294, maio 2004.

- GAVGANI, A. S. M. et al. Effect of insecticide-impregnated dog collars on incidence of zoonotic visceral leishmaniasis in Iranian children: a matched-cluster randomised trial. **Lancet (London, England)**, v. 360, n. 9330, p. 374–379, 3 ago. 2002.
- GEBESHUBER, I. Biomimetics—Prospects and Developments. **Biomimetics**, v. 7, p. 29, 25 fev. 2022.
- GISINGER, F.; GEBESHUBER, I.-C. Managing Insect Feet: Biomimetics of Plant Wax Based Non-Toxic Insect Repellents. 17 nov. 2022.
- GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, n. 3, p. 338–349, set. 2004.
- GONZÁLEZ, M. A. et al. Susceptibility of wild-caught *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) sand flies to insecticide after an extended period of exposure in western São Paulo, Brazil. **Parasites & Vectors**, v. 12, n. 1, p. 110, 14 mar. 2019.
- GONZÁLEZ, M.; LOPEZ, S.; ALARCÓN-ELBAL, P. Blood-feeding Diptera (Culicidae and Ceratopogonidae) in an urban park of the city of Vitoria-Gasteiz (Basque Country, Spain). **Journal of European Mosquito Control Association**, v. 33, p. 10–14, 6 jul. 2015.
- GOTO, H.; LINDOSO, J. A. L. Current diagnosis and treatment of cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. **Expert Review of Anti-Infective Therapy**, v. 8, n. 4, p. 419–433, abr. 2010.
- GOVIL, D. et al. Assessing Knowledge, Attitudes, and Preventive Practices Related to Kala-A: A Study of Rural Madhepura, Bihar, India. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 98, n. 3, p. 857–863, mar. 2018.
- GRADONI, L. A Brief Introduction to Leishmaniasis Epidemiology. Em: BRUSCHI, F.; GRADONI, L. (Eds.). **The Leishmaniasis: Old Neglected Tropical Diseases**. Cham: Springer International Publishing, 2018. p. 1–13.
- GUILLAUME J.J.M., VAN E. et al. Sequence analysis of small subunit ribosomal RNA genes and its use for detection and identification of *Leishmania* parasites. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 51, n. 1, p. 133–142, 1 mar. 1992.
- HAMID, K. et al. Molecular characterization of leishmania infection in sand flies from sistán va baluchistan province, southeastern Iran. p. 430–433, 2012.
- HENRIQUEZ, C. et al. Dosis diagnóstica y umbral de resistencia de *Lutzomyia evansi* (Diptera: Psychodidae), a dos insecticidas utilizados en salud pública en Colombia: deltametrina y lambdacihalotrina. **Revista de la Sociedad Entomológica Argentina**, v. 68, n. 3–4, p. 287–294, dez. 2009.
- IBGE, 2021. **Uberaba (MG) | Cidades e Estados | IBGE**. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/mg/uberaba.html>>. Acesso em: 31 out. 2022.
- JERALDO, V. DE L. S. et al. Sandfly fauna in an area endemic for visceral leishmaniasis in Aracaju, State of Sergipe, Northeast Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, p. 318–322, jun. 2012.

- KAMHAWI, S. Phlebotomine sand flies and Leishmania parasites: friends or foes? **Trends in Parasitology**, v. 22, n. 9, p. 439–445, set. 2006.
- KARAGIANNIS-VOULES, D.-A. et al. Bayesian Geostatistical Modeling of Leishmaniasis Incidence in Brazil. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 7, n. 5, p. e2213, 9 maio 2013.
- KARUNAWEEERA, N. D. et al. Spatiotemporal distribution of cutaneous leishmaniasis in Sri Lanka and future case burden estimates. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 4, p. e0009346, 23 abr. 2021.
- KHAN, W. et al. Cutaneous leishmaniasis—Awareness, knowledge and practices among general population in rural and urban areas in Malakand region, Pakistan. **Brazilian Journal of Biology**, v. 82, 2 abr. 2021.
- KILLICK-KENDRICK, R. Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 4, n. 1, p. 1–24, 1990.
- KILLICK-KENDRICK, R. The biology and control of phlebotomine sand flies. **Clinics in Dermatology**, v. 17, n. 3, p. 279–289, jun. 1999.
- KUSHWAHA, A. K. et al. Livestock and rodents within an endemic focus of Visceral Leishmaniasis are not reservoir hosts for *Leishmania donovani*. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 16, n. 10, p. e0010347, 20 out. 2022.
- L. WERNECK, G. et al. Avaliação da efetividade das estratégias de controle da leishmaniose visceral na cidade de Teresina, Estado do Piauí, Brasil: resultados do inquérito inicial - 2004. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 17, n. 2, p. 87–96, jun. 2008.
- LAINSON, R. Espécies neotropicais de *Leishmania*: uma breve revisão histórica sobre sua descoberta, ecologia e taxonomia. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 1, n. 2, p. 13–32, jun. 2010.
- LAINSON, R.; RANGEL, E. F. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil: a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, p. 811–827, dez. 2005.
- LANA, R. S. et al. Phlebotomine sand fly fauna and leishmania infection in the vicinity of the Serra do Cipó National Park, a natural Brazilian heritage site. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 385493, 2015.
- LANA, R. S. et al. Ecoepidemiological aspects of visceral leishmaniasis in an endemic area in the Steel Valley in Brazil: An ecological approach with spatial analysis. **PLOS ONE**, v. 13, n. 10, p. e0206452, 30 out. 2018.
- LANGERON, M. **Précis de microscopie : technique, expérimentation, diagnostic**. [1.]-éd. ed. Paris: Masson, 1949. p. 1–816
- LARA-SILVA, F. DE O. et al. Epidemiological aspects of vector, parasite, and domestic reservoir in areas of recent transmission and no reported human cases of visceral leishmaniasis in Brazil. **Acta Tropica**, v. 148, p. 128–136, 1 ago. 2015.

- LEITE, B. M. M. et al. The mass use of deltamethrin collars to control and prevent canine visceral leishmaniasis: A field effectiveness study in a highly endemic area. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 5, p. e0006496, 14 maio 2018.
- LIMONGI, J. E. et al. Knowledge, attitudes and practices concerning visceral leishmaniasis among residents of a sporadic transmission area in southeast Brazil. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 115, n. 6, p. 644–652, 1 jun. 2021.
- LOPES, J. V. et al. Entomological Studies in Itaúna, Brazil, an Area With Visceral Leishmaniasis Transmission: Fauna Survey, Natural Leishmania Infection, and Molecular Characterization of the Species Circulating in Phlebotomine Sand Flies (Diptera: Psychodidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 56, n. 5, p. 1368–1376, 3 set. 2019.
- MACHADO, G. U.; PRATES, F. V.; MACHADO, P. R. L. Disseminated leishmaniasis: clinical, pathogenic, and therapeutic aspects. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 94, p. 09–16, fev. 2019.
- MAIA-ELKHOURY, A. N. S. et al. SisLeish: A multi-country standardized information system to monitor the status of Leishmaniasis in the Americas. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 9, p. e0005868, 5 set. 2017.
- MANN, S. et al. A Review of Leishmaniasis: Current Knowledge and Future Directions. **Current Tropical Medicine Reports**, v. 8, n. 2, p. 121–132, 2021.
- MANSOUR, C. E. K. **Investigação e documentação de flagelados no tubo digestório de flebotomíneos**. text—[s.l.] Universidade de São Paulo, 30 jul. 2018.
- MARCELÓ, C.; CABRERA, O. L.; SANTAMARÍA, E. Discriminating concentrations for three insecticides used in public health, in *Lutzomyia longipalpis* experimental strain from Colombia. **Biomédica**, v. 34, n. 4, p. 624–30, 1 dez. 2014.
- MARCONDES, C. B. et al. Natural infection of *Nyssomyia neivai* (Pinto, 1926) (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) by *Leishmania* (*Viannia*) spp. in Brazil. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 103, n. 11, p. 1093–1097, 1 nov. 2009.
- MARCONDES, M.; DAY, M. J. Current status and management of canine leishmaniasis in Latin America. **Research in Veterinary Science**, v. 123, p. 261–272, abr. 2019.
- MARCONDES, M.; ROSSI, C. N. Leishmaniose visceral no Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 50, n. 5, p. 341–352, 29 out. 2013.
- MARGONARI, C. et al. Epidemiology of visceral leishmaniasis through spatial analysis, in Belo Horizonte municipality, state of Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, p. 31–38, fev. 2006.
- MARGONARI, C. et al. Level of Knowledge and Risk Factors for Visceral Leishmaniasis in a Mining Area of Minas Gerais State, Brazil. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, v. 2020, p. e6301310, 20 nov. 2020.

- MAROLI, M. et al. Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 27, n. 2, p. 123–147, jun. 2013.
- MARZOCHI, M. C. DE A. et al. Visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro, Brazil: eco-epidemiological aspects and control. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, p. 570–580, out. 2009.
- MATSUMOTO, P. S. S. et al. Impact of the dog population and household environment for the maintenance of natural foci of *Leishmania infantum* transmission to human and animal hosts in endemic areas for visceral leishmaniasis in Sao Paulo state, Brazil. **PLOS ONE**, v. 16, n. 8, p. e0256534, 31 ago. 2021.
- MATUSHIMA, M. K.; SOUSA, T. DE J. POLÍTICAS DE DESENVOLVIMENTO E INDÚSTRIA EM MINAS GERAIS: ANÁLISE DOS DISTRITOS INDUSTRIAIS DE UBERABA-MG. **Caminhos de Geografia**, v. 22, n. 80, p. 309–323, 5 abr. 2021.
- MENDONÇA, I. L. DE et al. Infection of *Lutzomyia longipalpis* in cats infected with *Leishmania infantum*. **Veterinary Parasitology**, v. 280, p. 109058, 1 abr. 2020.
- MENDONÇA, G. B. Prevalência de *Leishmania* spp. em cães assintomáticos atendidos pelo programa de castração voluntária no hospital veterinário da Universidade Federal de Uberlândia. 14 dez. 2018.
- MENEZES, J. A. et al. Fatores de risco peridomiciliares e conhecimento sobre leishmaniose visceral da população de Formiga, Minas Gerais. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 19, p. 362–374, jun. 2016.
- METZDORF, I. P. et al. Molecular characterization of *Leishmania infantum* in domestic cats in a region of Brazil endemic for human and canine visceral leishmaniasis. **Acta Tropica**, v. 166, p. 121–125, 1 fev. 2017.
- MICHALSKY, É. M. et al. Infecção natural de *Lutzomyia* (*Lutzomyia*) *longipalpis* (Diptera: Psychodidae) por *Leishmania infantum* chagasi em flebotomíneos capturados no município de Janaúba, Estado de Minas Gerais, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, p. 58–62, fev. 2011.
- MICHELUTTI, A. et al. Occurrence of Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in the northeastern plain of Italy. **Parasites & Vectors**, v. 14, n. 1, p. 164, 18 mar. 2021.
- MIRANDA, J. et al. Studies of the Influence of the Presence of Domestic Animals on Increasing the Transmission Probabilities of Leishmaniasis. **Annals of Medical Entomology**, v. 17, p. 9–15, 1 jan. 2008.
- MOLLALO, A. et al. Machine learning approaches in GIS-based ecological modeling of the sand fly *Phlebotomus papatasi*, a vector of zoonotic cutaneous leishmaniasis in Golestan province, Iran. **Acta Tropica**, v. 188, p. 187–194, 1 dez. 2018.
- MONTEIRO, É. M. et al. Leishmaniose visceral: estudo de flebotomíneos e infecção canina em Montes Claros, Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, p. 147–152, abr. 2005.

MONTEIRO FILHO, E. L. DE A.; CONTE, C. E. Revisões em zoologia : Mata Atlântica. 2017.

MOTA, T. F. et al. Natural infection by *Leishmania infantum* in the *Lutzomyia longipalpis* population of an endemic coastal area to visceral leishmaniasis in Brazil is not associated with bioclimatic factors. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 8, p. e0007626, 26 ago. 2019.

MOUNIA, A. et al. A Community Based Survey of Knowledge, Attitudes, and Practices Concerning Leishmaniasis in Central Morocco. **Journal of Community Health**, v. 47, n. 6, p. 932–942, 1 dez. 2022.

NARAYANAN KUTTY, S. et al. A phylogenomic analysis of Culicomorpha (Diptera) resolves the relationships among the eight constituent families. **Systematic Entomology**, v. 43, n. 3, p. 434–446, 2018.

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, p. 119–122, abr. 2007.

NASCIMENTO, L. F. J. et al. Epidemiological and diagnostic aspects of feline leishmaniasis with emphasis on Brazil: a narrative review. **Parasitology Research**, v. 121, n. 1, p. 21–34, 1 jan. 2022.

NASEREDDIN, A. et al. Serological survey with PCR validation for canine visceral leishmaniasis in northern Palestine. **The Journal of Parasitology**, v. 92, n. 1, p. 178–183, fev. 2006.

OCAMPO, C. B. et al. Environmental factors associated with American cutaneous leishmaniasis in a new Andean focus in Colombia. **Tropical medicine & international health: TM & IH**, v. 17, n. 10, p. 1309–1317, out. 2012.

OLIVEIRA, E. C. T.; DE MENEZES, T. N.; DE OLINDA, R. A. High Blood Pressure and Self-Reported Systemic Hypertension in Elderly Enrolled in the Family Health Strategy Program. **Journal of Aging and Health**, v. 29, n. 4, p. 708–728, jun. 2017.

OLIVEIRA-PEREIRA, Y. N. et al. Diagnóstico molecular da taxa de infecção natural de flebotomíneos (Psychodidae, *Lutzomyia*) por *Leishmania* sp na Amazônia maranhense. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, p. 540–543, dez. 2006.

OPAS. **Atlas interativo de leishmaniose nas Américas: aspectos clínicos e diagnósticos diferenciais**. [s.l.] Pan American Health Organization, 2021a.

OPAS, O. P. A. DA S. **Leishmaniasis: Epidemiological Report of the Americas**. Disponível em: <<https://iris.paho.org/handle/10665.2/51742>>. Acesso em: 7 nov. 2022b.

OPAS, O. P.-A. DA S. **Diretrizes para o tratamento das leishmanioses na Região das Américas. Segunda edição**. Organização Pan-Americana da Saúde, , 2022. Disponível em: <<https://iris.paho.org/handle/10665.2/56487>>. Acesso em: 7 nov. 2022

ORTIZ, D. G. S. et al. Three new records of the genus *Lutzomyia* of the subgenus *Helcocyrtomyia* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) from Southwestern Brazilian Amazonia. **Acta Tropica**, v. 197, p. 104778, 1 set. 2019.

- ORYAN, A.; AKBARI, M. Worldwide risk factors in leishmaniasis. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 9, n. 10, p. 925–932, out. 2016.
- PESSOA, G. C. D. et al. Baseline susceptibility to alpha-cypermethrin in *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) from Lapinha Cave (Brazil). **Parasites & Vectors**, v. 8, p. 469, 17 set. 2015.
- PESSOA-E-SILVA, R. et al. The diagnosis of canine visceral leishmaniasis in Brazil: Confronting old problems. **Experimental Parasitology**, v. 199, p. 9–16, 1 abr. 2019.
- PETERSON, A. T.; SHAW, J. *Lutzomyia* vectors for cutaneous leishmaniasis in Southern Brazil: ecological niche models, predicted geographic distributions, and climate change effects. **International Journal for Parasitology**, v. 33, n. 9, p. 919–931, ago. 2003.
- PHILLIPS, S. J. et al. Opening the black box: an open-source release of Maxent. **Ecography**, v. 40, n. 7, p. 887–893, 2017.
- PINTO, I. DE S. et al. DNA Barcoding of Neotropical Sand Flies (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae): Species Identification and Discovery within Brazil. **PLOS ONE**, v. 10, n. 10, p. e0140636, 27 out. 2015.
- PINTON, L. DE G. et al. MAGNITUDES DO FENÔMENO DA ILHA DE CALOR URBANA EM SACRAMENTO (MG): PERSPECTIVAS DE APLICAÇÃO DO SISTEMA DAS ZONAS CLIMÁTICAS LOCAIS EM CIDADE DE PEQUENO PORTE. **Caminhos de Geografia**, v. 22, n. 79, p. 161–179, 1 fev. 2021.
- POCHÉ, D. M. et al. Phlebotomine sandfly ecology on the Indian subcontinent: does village vegetation play a role in sandfly distribution in Bihar, India? **Medical and Veterinary Entomology**, v. 31, n. 2, p. 207–213, 2017.
- PORTO, V. B. G. et al. Visceral leishmaniasis caused by *Leishmania* (*Leishmania*) *amazonensis* associated with Hodgkin's lymphoma. **Revista Do Instituto De Medicina Tropical De Sao Paulo**, v. 64, p. e51, 2022.
- QUALLS, W. A. et al. Control of sand flies with attractive toxic sugar baits (ATSB) and potential impact on non-target organisms in Morocco. **Parasites & Vectors**, v. 8, n. 1, p. 87, 8 fev. 2015.
- READY, P. D. Biology of phlebotomine sand flies as vectors of disease agents. **Annual Review of Entomology**, v. 58, p. 227–250, 2013.
- REBÊLO, J. M. M. et al. Detection of *Leishmania amazonensis* and *Leishmania braziliensis* in *Culicoides* (Diptera, Ceratopogonidae) in an endemic area of cutaneous leishmaniasis in the Brazilian Amazonia. **Journal of Vector Ecology: Journal of the Society for Vector Ecology**, v. 41, n. 2, p. 303–308, dez. 2016.
- REIS, D. C. DOS et al. Health education and social representation: an experience with the control of tegumentary leishmaniasis in an endemic area in Minas Gerais, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 22, p. 2301–2310, nov. 2006.
- REITHINGER, R. et al. Cutaneous leishmaniasis. **The Lancet. Infectious Diseases**, v. 7, n. 9, p. 581–596, set. 2007.

- RIBEIRO, A. DE L. Leishmaniose visceral canina: estudo retrospectivo de 35 casos de 2012 a 2020. 18 jun. 2021.
- ROCHA, A. V. V. O. et al. Diagnosis and epidemiology of *Leishmania infantum* in domestic cats in an endemic area of the Amazon region, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 273, p. 80–85, 1 set. 2019.
- ROCHA, D. DE A. et al. Methods for detecting insecticide resistance in sand flies: A systematic review. **Acta Tropica**, v. 213, p. 105747, 1 jan. 2021.
- ROCHA, M. B. et al. Análise clínica, epidemiológica, diagnóstica e terapêutica referente aos casos de leishmaniose visceral em hospital universitário do Triângulo Mineiro. **Revista Saúde e Meio Ambiente**, v. 14, n. 1, p. 115–129, 11 maio 2022.
- RODRIGUES, B. L.; GALATI, E. A. B. Molecular taxonomy of phlebotomine sand flies (Diptera, Psychodidae) with emphasis on DNA barcoding: A review. **Acta Tropica**, v. 238, p. 106778, fev. 2023.
- RODRIGUES, J. A. P. Estudo da fauna de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) no Parque do Sabiá, Uberlândia - MG. 20 dez. 2019.
- ROMERO, G. A. S.; BOELAERT, M. Control of Visceral Leishmaniasis in Latin America—A Systematic Review. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 4, n. 1, p. e584, 19 jan. 2010.
- ROSA, J. M. DOS S. P. Wolbachia (Rickettsiales: Rickettsiaceae) em Maruins do gênero *Culicoides* e *Leptoconops* (DIPTERA: CERATOPOGONIDAE) coletados nos estados do Amazonas e Pará. 2021.
- ROSA, J. R. et al. *Leishmania (Viannia) braziliensis* in *Migonemyia migonei* and *Cortelezzii* complex (Diptera: Phlebotominae) from Chaco, Argentina. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 94, 21 mar. 2022.
- ROSÁRIO, I. N. G. et al. Evaluating the Adaptation Process of Sandfly Fauna to Anthropized Environments in a Leishmaniasis Transmission Area in the Brazilian Amazon. **Journal of Medical Entomology**, v. 54, n. 2, p. 450–459, 1 mar. 2017.
- ROSAS FILHO, M. DE S.; SILVEIRA, F. T. Epidemiologia, clínica e imunologia da infecção humana por *Leishmania (Leishmania) infantum* chagasi em área endêmica de leishmaniose visceral no Pará. **Revista Paraense de Medicina**, v. 21, n. 3, p. 7–18, set. 2007.
- RUBIN, G. J.; WESSELY, S. The psychological effects of quarantining a city. **BMJ (Clinical research ed.)**, v. 368, p. m313, 28 jan. 2020.
- RUILOPE, L. M. et al. Obesity and hypertension in Latin America: Current perspectives. **Hipertension Y Riesgo Vascular**, v. 35, n. 2, p. 70–76, jun. 2018.
- SALARI, N. et al. Prevalence of stress, anxiety, depression among the general population during the COVID-19 pandemic: a systematic review and meta-analysis. **Globalization and Health**, v. 16, n. 1, p. 57, 6 jul. 2020.

SALOMON, O. D. *Lutzomyia longipalpis*, Gone with the Wind and Other Variables. **Neotropical Entomology**, v. 50, n. 2, p. 161–171, abr. 2021.

SANTOS, H. F. A DINÂMICA DO AGRONEGÓCIO E A CONSOLIDAÇÃO DE UMA AGRICULTURA CIENTÍFICA GLOBALIZADA NO MUNICÍPIO DE UBERABA (MG). **Caminhos de Geografia**, v. 18, n. 61, p. 200–218, 31 mar. 2017.

SANTOS, T. V. D. **FLEBOTOMÍNEOS (DIPTERA: PSYCHODIDAE: PHLEBOTOMINAE) E A TRANSMISSÃO DE AGENTES DE LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA NO MUNICÍPIO DE OIAPOQUE, AMAPÁ, REGIÃO DE FRONTEIRA BRASIL-GUIANA FRANCESA.** Disponível em:

<<https://www.ppgbaip.propesp.ufpa.br/index.php/br/agenda/defesas/386-flebotomineos-diptera-psychodidae-phlebotominae-e-a-transmissao-de-agentes-de-leishmaniose-tegumentar-americana-no-municipio-de-oiapoque-amapa-regiao-de-fronteira-brasil-guiana-francesa>>. Acesso em: 7 nov. 2022.

SAPATERA, N. DE S. et al. Leishmaniose visceral em canídeos silvestres – revisão de literatura. **Leishmaniose visceral em canídeos silvestres – revisão de literatura**, p. 1–9, 2022.

SARAIVA, L. et al. Natural infection of *Lutzomyia neivai* and *Lutzomyia sallesi* (Diptera: Psychodidae) by *Leishmania infantum* chagasi in Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 46, n. 5, p. 1159–1163, set. 2009.

SARAIVA, L. et al. The molecular detection of different *Leishmania* species within sand flies from a cutaneous and visceral leishmaniasis sympatric area in Southeastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, p. 1033–1039, dez. 2010.

SARDAR, A. A. et al. Insecticide susceptibility status of *Phlebotomus argentipes* and polymorphisms in voltage-gated sodium channel (vgsc) gene in Kala-azar endemic areas of West Bengal, India. **Acta Tropica**, v. 185, p. 285–293, set. 2018.

SARKARI, B.; QASEM, A.; SHAFAF, M. R. Knowledge, attitude, and practices related to cutaneous leishmaniasis in an endemic focus of cutaneous leishmaniasis, Southern Iran. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, n. 7, p. 566–569, 1 jul. 2014.

SASIDHARAN, S.; SAUDAGAR, P. Leishmaniasis: where are we and where are we heading? **Parasitology Research**, v. 120, n. 5, p. 1541–1554, maio 2021.

SCHÖNIAN, G. et al. PCR diagnosis and characterization of *Leishmania* in local and imported clinical samples. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 47, n. 1, p. 349–358, set. 2003.

SEBLOVA, V. et al. Development of *Leishmania* parasites in *Culicoides nubeculosus* (Diptera: Ceratopogonidae) and implications for screening vector competence. **Journal of Medical Entomology**, v. 49, n. 5, p. 967–970, set. 2012.

SEBLOVA, V. et al. The Biting Midge *Culicoides sonorensis* (Diptera: Ceratopogonidae) Is Capable of Developing Late Stage Infections of *Leishmania enriettii*. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 9, p. e0004060, 14 set. 2015.

- SERAFIM, T. D. et al. Leishmaniasis: the act of transmission. **Trends in Parasitology**, v. 37, n. 11, p. 976–987, nov. 2021.
- SERRA E MEIRA, P. C. L. et al. Phlebotominae Fauna (Diptera: Psychodidae) and Molecular Detection of Leishmania (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) in Urban Caves of Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 59, n. 1, p. 257–266, 1 jan. 2022.
- SHAW, J. J. Further thoughts on the use of the name Leishmania (Leishmania) infantum chagasi for the aetiological agent of American visceral leishmaniasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, p. 577–579, ago. 2006.
- SHELLEY, A. J.; COSCARÓN, S. Simuliid blackflies (Diptera: Simuliidae) and ceratopogonid midges (Diptera: Ceratopogonidae) as vectors of Mansonella ozzardi (Nematoda: Onchocercidae) in northern Argentina. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, p. 451–458, maio 2001.
- SHIRAVAND, B. et al. Modeling spatial risk of zoonotic cutaneous leishmaniasis in Central Iran. **Acta Tropica**, v. 185, p. 327–335, 1 set. 2018.
- SILVA, J. G. D. E. et al. [Natural infection of Lutzomyia longipalpis by Leishmania sp. in Teresina, Piauí State, Brazil]. **Cadernos De Saude Publica**, v. 23, n. 7, p. 1715–1720, jul. 2007.
- SILVA, P. et al. Is it possible to consider the control of human Visceral Leishmaniasis from the perspective of Biomimetics? v. 5, p. 24–30, 5 jan. 2022.
- SILVA; PRATA. **DINÂMICA DAS DOENÇAS INFECCIOSAS E PARASITÁRIAS - COURA.pdf**, 2018.
- SILVA-FILHO, A. G. DA et al. Situação epidemiológica das leishmanioses em Uberlândia, Minas Gerais. **Revista de Saúde Coletiva da UEFS**, v. 9, p. 166–172, 28 dez. 2019.
- SILVÉRIO, M. R. S. et al. Plant Natural Products for the Control of Aedes aegypti: The Main Vector of Important Arboviruses. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 25, n. 15, p. 3484, 31 jul. 2020.
- SINGH, S.; KUMARI, V.; SINGH, N. Predicting kala-azar disease manifestations in asymptomatic patients with latent Leishmania donovani infection by detection of antibody against recombinant K39 antigen. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 9, n. 3, p. 568–572, maio 2002.
- SIRLEY, F. T. ASPECTOS DA ECOLOGIA DE FLEBOTOMÍNEOS (DIPTERA: PSYCHODIDAE) EM ÁREA DE OCORRÊNCIA DE LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA: SINOP, MATO GROSSO. p. 187, 2017.
- SLAMA, D. et al. First detection of Leishmania infantum (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) in Culicoides spp. (Diptera: Ceratopogonidae). **Parasites & Vectors**, v. 7, n. 1, p. 51, 25 jan. 2014.
- SOARES, C. S. A.; DUARTE, S. C.; SOUSA, S. R. What do we know about feline leishmaniosis? **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 18, n. 6, p. 435–442, jun. 2016.

SOARES, M. R. A. et al. Análise molecular da infecção natural de *Lutzomyia longipalpis* em área endêmica de leishmaniose visceral no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 26, p. 2409–2413, dez. 2010.

SOBERON, J.; PETERSON, A. T. Interpretation of Models of Fundamental Ecological Niches and Species' Distributional Areas. **Biodiversity Informatics**, v. 2, 13 jan. 2005.

SOUSA-PAULA, L. C. DE et al. Failure of the dog culling strategy in controlling human visceral leishmaniasis in Brazil: A screening coverage issue? **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 6, p. e0007553, 26 jun. 2019.

SOUSA-PAULA, L. C. DE; OTRANTO, D.; DANTAS-TORRES, F. *Lutzomyia longipalpis* (Sand Fly). **Trends in Parasitology**, v. 36, n. 9, p. 796–797, set. 2020.

SOUZA, N. A. et al. Seasonality of *Lutzomyia intermedia* and *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), occurring sympatrically in area of cutaneous leishmaniasis in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 759–765, set. 2002.

SRINIVASAN, R. et al. Positive Influence of Behavior Change Communication on Knowledge, Attitudes, and Practices for Visceral Leishmaniasis/Kala-azar in India. **Global Health, Science and Practice**, v. 6, n. 1, p. 192–209, 21 mar. 2018.

STEVERDING, D. The history of leishmaniasis. **Parasites & Vectors**, v. 10, p. 82, 15 fev. 2017.

STEWART, I. D.; OKE, T. R.; KRAYENHOFF, E. S. Evaluation of the 'local climate zone' scheme using temperature observations and model simulations. **International Journal of Climatology**, v. 34, n. 4, p. 1062–1080, 2014.

SUESDEK, L. Microevolution of medically important mosquitoes – A review. **Acta Tropica**, v. 191, p. 162–171, 1 mar. 2019.

SUNANTARAPORN, S. et al. *Culicoides* Latreille (Diptera: Ceratopogonidae) as potential vectors for *Leishmania martiniquensis* and *Trypanosoma* sp. in northern Thailand. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 12, p. e0010014, 15 dez. 2021.

SZELAG, E. A. et al. Temporal distribution of, and effect of anthropic modifications on, phlebotomine populations in the Chaco Bioregion, Argentina. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 32, n. 2, p. 206–215, 2018.

SZELAG, E. A. et al. Description of *Evandromyia cristacapita* sp. nov., a new sand fly species of the Argentinian Chaco. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 35, n. 4, p. 607–616, 2021.

TALBI, F. Z. et al. Entomological Investigations, Seasonal Fluctuations and Impact of Bioclimate Factors of Phlebotomines Sand Flies (Diptera: Psychodidae) of an Emerging Focus of Cutaneous Leishmaniasis in Aichoun, Central Morocco. **Journal of Parasitology Research**, v. 2020, p. e6495108, 7 jul. 2020.

TARALLO, V. D. et al. Phlebotomine sand fly population dynamics in a leishmaniasis endemic peri-urban area in southern Italy. **Acta Tropica**, v. 116, n. 3, p. 227–234, dez. 2010.

TOLEZANO, J. E. et al. Avaliação da efetividade do uso de coleiras impregnadas com deltametrina no controle da leishmaniose visceral no município de Votuporanga, Estado de São Paulo, Brasil, 2014 – 2016. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 77, p. 1–10, 29 mar. 2018.

TRAVASSOS DA ROSA, J. F. et al. Oropouche Virus: Clinical, Epidemiological, and Molecular Aspects of a Neglected Orthobunyavirus. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 96, n. 5, p. 1019–1030, maio 2017.

TRAVI, B. L. et al. Canine visceral leishmaniasis: Diagnosis and management of the reservoir living among us. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 1, p. e0006082, 11 jan. 2018.

TRINDADE, R. L. DA; GORAYEB, I. DE S. Maruins (Ceratopogonidae: Diptera) do estuário do Rio Pará e do litoral do Estado do Pará, Brasil. **Entomología y Vectores**, v. 12, p. 61–74, mar. 2005.

URSINE, R. L. et al. Influence of anthropic changes and environmental characteristics on the occurrence of Tegumentary Leishmaniasis in Montes Claros, Minas Gerais, Brazil, between 2012 and 2019. **Acta Tropica**, v. 238, p. 106787, 1 fev. 2023.

VAN DEN BERG, H. et al. Recent trends in global insecticide use for disease vector control and potential implications for resistance management. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 23867, 13 dez. 2021.

VAZ, T. P. et al. Evaluation of the euthanasia of seropositive dogs for canine visceral leishmaniasis as the only method of controlling the disease in the enzootic area in the Midwestern Minas Gerais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 40, p. 107–112, 9 abr. 2020.

VESTEG, M. et al. Comparative molecular cell biology of phototrophic euglenids and parasitic trypanosomatids sheds light on the ancestor of Euglenozoa. **Biological Reviews**, v. 94, n. 5, p. 1701–1721, 2019.

WAMAI, R. G. et al. Visceral leishmaniasis: a global overview. **Journal of Global Health Science**, v. 2, n. 1, 14 maio 2020.

WARD, R. D. et al. Preliminary laboratory and field trials of a heated pheromone trap for the sandfly *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 85, p. 445–452, dez. 1990.

WERNECK, G. L. Visceral leishmaniasis in Brazil: rationale and concerns related to reservoir control. **Revista de Saúde Pública**, v. 48, p. 851–856, out. 2014.

WHO. Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, Geneva, 22-26 March 2010. **Control de las leishmaniasis: informe de una reunión del Comité de Expertos de la OMS sobre el Control de las Leishmaniasis, Ginebra, 22 a 26 de marzo de 2010**, WHO technical report series ; 949. 2010.

WHO. **Leishmaniasis**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>>. Acesso em: 7 nov. 2022.

YIMAM, Y.; MOHEBALI, M. Effectiveness of insecticide-impregnated dog collars in reducing incidence rate of canine visceral leishmaniasis: A systematic review and meta-analysis. **PLOS ONE**, v. 15, n. 9, p. e0238601, 3 set. 2020.

YOUNG, D. G.; DUNCAN, M. A. GUIDE TO THE IDENTIFICATION AND GEOGRAPHIC DISTRIBUTION OF LUTZOMYIA SAND FLIES IN MEXICO, THE WEST INDIES, CENTRAL AND SOUTH AMERICA (DIPTERA: PSYCHODIDAE). p. 887, 1994.

ZHANG, S. X. et al. Predictors of Depression and Anxiety Symptoms in Brazil during COVID-19. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 13, p. 7026, jan. 2021.

**ANEXO A – OFÍCIO VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA SOBRE ACHADO *Lu. longipalpis***

SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE DE MINAS GERAIS  
SUBSECRETARIA DE VIGILÂNCIA E PROTEÇÃO À SAÚDE  
SUPERINTENDÊNCIA DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA, AMBIENTAL E SAÚDE DO  
TRABALHADOR  
DIRETORIA DE VIGILÂNCIA AMBIENTAL

**Memo: NE/URA/SES 013/2018**

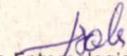
**Assunto: Pesquisa entomológica.  
Equipe de entomologia SES/MG**

Uberaba, 27 de setembro de 2018.

Prezados Senhores,

Resultados encontrados pela equipe em inquérito entomológico e busca ativa de FLEBOTOMÍNEOS no município de Uberaba, Bairro Santa Fé, em Julho de 2018, com resultado POSITIVO para gênero ( *Lutzomyia*) longipalpis.

Atenciosamente,

  
Núcleo de Entomologia de Uberaba  
José M. de Sales  
Referência Téc. Entomologia.

**NÚCLEO DE ENTOMOLOGIA SRS de UBERABA**  
Macro Regional - Av. Da Saudade, 1346 - Mercês. Uberaba - MG. CEP: 38061-000  
Tele-fax (34) 3312-1110

## ANEXO B – TERMO DE RESPONSABILIDADE DE EMPRÉSTIMO DE EQUIPAMENTO



GOVERNO DO ESTADO DE MINAS GERAIS  
Superintendência Regional de Saúde de Uberaba  
CVS/Coordenadoria de Epidemiologia

### TERMO DE RESPONSABILIDADE EMPRÉSTIMO DE EQUIPAMENTO

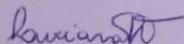
Solicitante: MG \_\_\_\_\_  
Telefone(s) p/ contato: (034) \_Epidemiologia\_  
Equipamento: \_ARMADILHA LUMINOSA - CDC \_\_\_\_\_  
Marca e Modelo: \_JOHN W. HOCK COMPANY \_\_\_\_\_  
Nº Patrimônio: \_\_\_\_\_SES-MG/FUNED- \_\_\_\_\_  
Data do empréstimo: \_20/07/2021 \_\_\_\_\_  
Data da devolução: \_20/07/2022 \_\_\_\_\_  
Finalidade de uso: ATENDER AO PROGRAMA LEISHMANIOSE VISCERAL UFTM-  
UBERBA - MG \_\_\_\_\_  
Local de uso: \_CIDADE DE UBERABA - MG\_ \_\_\_\_\_

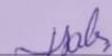
Declaro assumir total responsabilidade por extravio ou danos verificados após a retirada do equipamento; neste caso, providenciarei o reparo ou a reposição do item emprestado em prazo de 30 dias a contar da data de devolução. Afirmando ter verificado, antes da retirada, que o equipamento encontrava-se:

em perfeitas condições de uso e bom estado de conservação  
 com os seguintes problemas e/ou danos (descrevê-los): \_\_REVISADO EM  
PERFEITAS CONDIÇÕES DE USO.....

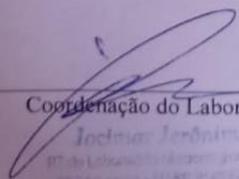
( \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_ )

Nestes termos, solicito deferimento  
Uberaba, 20 de SETEMBRO de 2021

  
\_\_\_\_\_  
Luciana de Almeida Silva Teixeira  
Docente do Programa de Pós-graduação  
em Medicina Tropical e Infectologia

  
\_\_\_\_\_  
José Maria de Sales  
Resp. N. Entomologia

DEFERIDO: Paulo Cesar de Souza.....  
 INDEFERIDO: .....

  
\_\_\_\_\_  
Coordenação do Laboratório  
Ináclio Jerônimo de Silva  
PT do Laboratório de Diagnóstico em Saúde Pública  
UBERABA - MG - 38.400-000 - CEP: 38.400-000

## ANEXO C – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
TRIÂNGULO MINEIRO - UFTM

Plataforma  
Brasil

### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Otimização do diagnóstico precoce e do manejo de indivíduos com leishmaniose visceral em áreas endêmicas com diferentes perfis de transmissão e endemicidade

**Pesquisador:** Luciana de Almeida Silva Teixeira

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 54430516.2.0000.5154

**Instituição Proponente:** Universidade Federal do Triangulo Mineiro

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.667.477

## ANEXO D – TCLE RESPONSÁVEL LEGAL



Ministério da Educação  
Universidade Federal do Triângulo Mineiro  
Comitê de Ética em Pesquisa – CEP

Rua Conde Prados, 191 – Abadia – 38025-260 – Uberaba-MG – Telefone (0\*\*34)3700-6803 – E-mail: cep@uftm.edu.br

**CEP/UFTM – PROTOCOLO DE PROJETO DE PESQUISA COM ENVOLVIMENTO DE SERES HUMANOS**  
(Este protocolo foi desenvolvido em consonância com as Resoluções 466/12 e 510/16 – do Conselho Nacional de Saúde (CNS) e Norma Operacional nº001/13 CNS).

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (Para participantes do grupo menores de 7 anos de idade)

**Título do Projeto:** “Estudo epidemiológico de infecção humana por *Leishmania infantum* no município de Uberaba”

#### ESCLARECIMENTO – RESPONSÁVEL LEGAL

Convidamos o menor sob sua responsabilidade a participar do estudo “Estudo epidemiológico de infecção humana por *Leishmania infantum* no município de Uberaba”, por residir em município com registro de casos de Leishmaniose Visceral canina provavelmente adquirida em outras regiões, mas com chance de também ter pessoas com esta infecção aqui. Leishmaniose visceral é uma doença causada por um microorganismo chamado *Leishmania* e pode acometer tanto pessoas quanto os cães. A pessoa doente pode apresentar febre, crescimento da barriga e diminuição da resistência do corpo. Sua participação como responsável legal do menor de 7 anos de idade, é muito importante para que avanços na prevenção e controle desta doença possam ser organizados com mais precisão na cidade de Uberaba. O objetivo desse estudo é realizar um levantamento sobre possíveis pessoas que estejam com a infecção por *Leishmania* em Uberaba. Caso você aceite que o menor sob a sua responsabilidade participe, será necessário fornecer informações sobre o estado de saúde do menor sob sua responsabilidade, além de informações sobre o seu domicílio (incluindo fotografia), e ainda coletar uma pequena gota de sangue do dedo do menor sob sua responsabilidade para fazer um exame que detectará a infecção por *Leishmania*. O pequeno risco de desconforto ao menor sob sua responsabilidade poderá estar relacionado à: - 1) realização das fotos do ambiente domiciliar (nenhum morador será fotografado, apenas o ambiente, e as fotos não serão compartilhadas ficando apenas para utilização na pesquisa); 2) desconforto relacionado à picada da lanceta no dedo do menor sob sua responsabilidade (todo o material é estéril, individual, e será realizado por pesquisadores com treinamento específico). Caso o exame do menor sob sua responsabilidade seja positivo para infecção por *Leishmania* será agendado para vocês um atendimento por médicos especialistas na doença no HC/UFTM, que avaliará a situação do menor sob sua responsabilidade. Em caso de precisar de tratamento, o medicamento é oferecido gratuitamente. Não será realizado nenhum procedimento que lhes traga risco à sua vida. Esperamos com essa pesquisa esclarecer as dúvidas relacionadas à Leishmaniose Visceral tanto humana quanto canina e propor medidas de controle e monitoramento para o município de Uberaba. Você poderá obter todas as informações que quiser e poderá não autorizar a participação do menor sob sua responsabilidade da pesquisa ou retirar seu consentimento a qualquer momento, sem prejuízo no seu atendimento. Pela participação dele(a) no estudo, você ou ele(a) não receberá qualquer valor em dinheiro, mas terá a garantia de que todas as despesas necessárias para a realização da pesquisa não serão de sua responsabilidade ou do menor sob sua responsabilidade. O nome menor sob sua responsabilidade não aparecerá em qualquer momento do estudo, pois ele(a) será identificado por código. Vocês terão direito a requerer indenização diante de eventuais danos que vocês sofram em decorrência dessa pesquisa.

Este documento deverá ser emitido em duas vias, uma para o participante e outra para o pesquisador.

Rubrica do participante	Data	Rubrica do pesquisador	Data



Ministério da Educação  
Universidade Federal do Triângulo Mineiro  
Comitê de Ética em Pesquisa – CEP

Rua Conde Prados, 191 – Abadia – 38025-260 – Uberaba-MG – Telefone (0\*\*34)3700-6803 – E-mail: cep@uftm.edu.br

### CONSENTIMENTO LIVRE APÓS ESCLARECIMENTO

**Título do Projeto:** “Estudo epidemiológico de infecção humana por *Leishmania infantum* no município de Uberaba”

Eu, \_\_\_\_\_, e o menor sob minha responsabilidade, voluntário a participar dessa pesquisa, lemos e/ou ouvimos o esclarecimento acima e compreendi para que serve o estudo e qual procedimento o menor sob minha responsabilidade será submetido. A explicação que recebemos esclarece os riscos e benefícios do estudo. Nós entendemos que somos livres para interromper a participação dele(a) a qualquer momento, sem justificar nossa decisão/escolha e isso não afetará no atendimento e/ou tratamento que ele(a) recebe.

Sei que o nome dele(a) não será divulgado, que não teremos despesas e não receberemos dinheiro por participar do estudo. Concordamos juntos que ele(a) participe do estudo “Estudo epidemiológico de infecção humana por *Leishmania infantum* no município de Uberaba” e receberei uma via assinada deste documento.

Uberaba, ...../...../.....

\_\_\_\_\_  
Assinatura do responsável legal

Documento de identidade: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador responsável

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador orientador

**Telefone de contato dos pesquisadores:**

Profa. Luciana de Almeida Silva Teixeira; 3318-5254; MSc Priscilla Elias Ferreira da Silva; 98805-9837.

-----  
Em caso de dúvida em relação a esse documento, favor entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, pelo telefone (34) 3700-6803, ou no endereço Rua Conde Prados, 191, Bairro Nossa Senhora da Abadia – Uberaba – MG – de segunda a sexta-feira, das 08:00 às 11:30 e das 13:00 às 17:30. Os Comitês de Ética em Pesquisa são colegiados criados para defender os interesses dos participantes de pesquisas, quanto a sua integridade e dignidade, e contribuir no desenvolvimento das pesquisas dentro dos padrões éticos.

Este documento deverá ser emitido em duas vias, uma para o participante e outra para o pesquisador.

Rubrica do participante	Data	Rubrica do pesquisador	Data

## ANEXO E – TCLE ASSENTIMENTO



Ministério da Educação  
Universidade Federal do Triângulo Mineiro  
Comitê de Ética em Pesquisa – CEP

Rua Conde Prados, 191 – Abadia – 38025-260 – Uberaba-MG – Telefone (0\*\*34)3700-6803 – E-mail: cep@uftm.edu.br

**CEP/UFTM – PROTOCOLO DE PROJETO DE PESQUISA COM ENVOLVIMENTO DE SERES HUMANOS**  
(Este protocolo foi desenvolvido em consonância com as Resoluções 466/12 e 510/16 – do Conselho Nacional de Saúde (CNS) e Norma Operacional nº001/13 CNS).

### TERMO ASSENTIMENTO (Para participantes do grupo de faixa etária entre 7 e 18 anos)

**Título do Projeto:** “Estudo epidemiológico de infecção humana por *Leishmania infantum* no município de Uberaba”

#### ESCLARECIMENTO

Convidamos você para participar da pesquisa “Estudo epidemiológico de infecção humana por *Leishmania infantum* no município de Uberaba”, por morar em uma cidade que tem casos de cães com uma doença chamada Leishmaniose Visceral. Essa doença pode também acontecer em pessoas, quando um mosquito pica um cachorro doente e depois pica uma pessoa e pode transmitir o parasita chamado *Leishmania*. Por isso, aqui em Uberaba estamos fazendo esta pesquisa para saber se as pessoas que moram junto com os cães positivos para a Leishmaniose visceral também podem ter tido contato com esta doença. Caso você aceite participar da pesquisa, será preciso falar sobre seu estado de saúde, sobre a sua casa (incluindo fotografia), e ainda coletar uma pequena gota de sangue do seu dedo para fazer um exame de Leishmaniose Visceral. O pequeno risco de mal estar poderá estar relacionado à: - 1) realização das fotos da casa (nenhum morador será fotografado, apenas o ambiente, e as fotos não serão compartilhadas ficando apenas para utilização na pesquisa); 2) picada no dedo para coletar uma gota de sangue (todo o material é limpo, será utilizado apenas em você, e a coleta será feita por pessoa treinada). Se o seu exame vier positivo você será atendido por um médico do HC/UFTM, que avaliará a sua situação. Em caso de precisar de tratamento, o medicamento é oferecido gratuitamente. Não será feito nada que lhe traga risco à sua vida. Esperamos com essa pesquisa esclarecer as dúvidas relacionadas à Leishmaniose Visceral em Uberaba. Você poderá ter todas as informações que quiser e poderá não participar ou se retirar a qualquer momento, sem perder nada com isso. Pela sua participação no estudo, você não receberá nenhum valor em dinheiro, mas também não pagará nada. Seu nome não aparecerá em nenhum momento do estudo. Você tem direito a pedir indenização diante de eventuais danos que você sofra por causa dessa pesquisa.

Este documento deverá ser emitido em duas vias, uma para o participante e outra para o pesquisador.

Rubrica do participante	Data	Rubrica do pesquisador	Data



Ministério da Educação  
Universidade Federal do Triângulo Mineiro  
Comitê de Ética em Pesquisa – CEP

Rua Conde Prados, 191 – Abadia – 38025-260 – Uberaba-MG – Telefone (0\*\*34)3700-6803 – E-mail: cep@uftm.edu.br

### CONSENTIMENTO LIVRE, APÓS ESCLARECIMENTO

**Título do Projeto:** “Estudo epidemiológico de infecção humana por *Leishmania infantum* no município de Uberaba”

Eu, \_\_\_\_\_, li e/ou ouvi o esclarecimento acima e compreendi para que serve o estudo e qual procedimento a que serei submetido. A explicação que recebi esclarece os riscos e benefícios do estudo. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação a qualquer momento, sem justificar a minha decisão/escolha.

Sei que meu nome não será divulgado, que não terei despesas e não receberei dinheiro por participar do estudo. Eu concordo em participar do estudo “*Estudo epidemiológico de infecção humana por Leishmania infantum no município de Uberaba*” e receberei uma via assinada (e rubricada em todas as páginas) deste documento.

Uberaba, ...../...../.....

\_\_\_\_\_  
Assinatura do participante

Documento de identidade: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador responsável

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador orientador

**Telefone de contato dos pesquisadores:**

Profa. Luciana de Almeida Silva Teixeira; 3318-5254; MSc Priscilla Elias Ferreira da Silva; 98805-9837.

Em caso de dúvida em relação a esse documento, favor entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, pelo telefone (34) 3700-6803, ou no endereço Rua Conde Prados, 191, Bairro Nossa Senhora da Abadia – Uberaba – MG – de segunda a sexta-feira, das 08:00 às 11:30 e das 13:00 às 17:30. Os Comitês de Ética em Pesquisa são colegiados criados para defender os interesses dos participantes de pesquisas, quanto a sua integridade e dignidade, e contribuir no desenvolvimento das pesquisas dentro dos padrões éticos.

Este documento deverá ser emitido em duas vias, uma para o participante e outra para o pesquisador.

Rubrica do participante	Data	Rubrica do pesquisador	Data

## ANEXO F – TCLE MAIORES DE 18 ANOS



Ministério da Educação  
Universidade Federal do Triângulo Mineiro  
Comitê de Ética em Pesquisa – CEP

Rua Conde Prados, 191 – Abadia – 38025-260 – Uberaba-MG – Telefone (0\*\*34)3700-6803 – E-mail: cep@uftm.edu.br

**CEP/UFTM – PROTOCOLO DE PROJETO DE PESQUISA COM ENVOLVIMENTO DE SERES HUMANOS**  
(Este protocolo foi desenvolvido em consonância com as Resoluções 466/12 e 510/16 – do Conselho Nacional de Saúde (CNS) e Norma Operacional nº001/13 CNS).

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (Para participantes do grupo maiores de 18 anos)

**Título do Projeto:** “Estudo epidemiológico de infecção humana por *Leishmania infantum* no município de Uberaba”

#### ESCLARECIMENTO

Você está sendo convidado (a) a participar do estudo “Estudo epidemiológico de infecção humana por *Leishmania infantum* no município de Uberaba”, por residir em município com registro de casos de Leishmaniose Visceral canina provavelmente adquirida em outras regiões, mas com chance de também ter pessoas com esta infecção aqui. Leishmaniose visceral é uma doença causada por um microorganismo chamado *Leishmania* e pode acometer tanto pessoas quanto os cães. A pessoa doente pode apresentar febre, crescimento da barriga e diminuição da resistência do corpo. Sua participação é muito importante para que avanços na prevenção e controle desta doença possam ser organizados com mais precisão na cidade de Uberaba. O objetivo desse estudo é realizar um levantamento sobre possíveis pessoas que estejam com a infecção por *Leishmania* em Uberaba. Caso você participe, será necessário fornecer informações sobre seu estado de saúde, sobre o seu domicílio (incluindo fotografia), e ainda coletar uma pequena gota de sangue do seu dedo para fazer um exame que detectará a infecção por *Leishmania*. O pequeno risco de desconforto poderá estar relacionado à: - 1) realização das fotos do ambiente domiciliar (nenhum morador será fotografado, apenas o ambiente, e as fotos não serão compartilhadas ficando apenas para utilização na pesquisa); 2) desconforto relacionado à picada da lanceta no dedo (todo o material é estéril, individual, e será realizado por pesquisadores com treinamento específico). Caso seu exame seja positivo para infecção por *Leishmania* será agendado para você um atendimento por médicos especialistas na doença no HC/UFTM, que avaliarão a sua situação. Em caso de precisar de tratamento, o medicamento é oferecido gratuitamente. Não será realizado nenhum procedimento que lhe traga risco à sua vida. Esperamos com essa pesquisa esclarecer as dúvidas relacionadas à Leishmaniose Visceral tanto humana quanto canina e propor medidas de controle e monitoramento para o município de Uberaba. Você poderá obter todas as informações que quiser e poderá não participar da pesquisa ou retirar seu consentimento a qualquer momento, sem prejuízo no seu atendimento. Pela sua participação no estudo, você não receberá qualquer valor em dinheiro, mas terá a garantia de que todas as despesas necessárias para a realização da pesquisa não serão de sua responsabilidade. Seu nome não aparecerá em qualquer momento do estudo, pois você será identificado por código. Você tem direito a requerer indenização diante de eventuais danos que você sofra em decorrência dessa pesquisa.

Este documento deverá ser emitido em duas vias, uma para o participante e outra para o pesquisador.

Rubrica do participante	Data	Rubrica do pesquisador	Data



Ministério da Educação  
Universidade Federal do Triângulo Mineiro  
Comitê de Ética em Pesquisa – CEP

Rua Conde Prados, 191 – Abadia – 38025-260 – Uberaba-MG – Telefone (0\*\*34)3700-6803 – E-mail: cep@uftm.edu.br

### CONSENTIMENTO LIVRE, APÓS ESCLARECIMENTO

**Título do Projeto:** “Estudo epidemiológico de infecção humana por *Leishmania infantum* no município de Uberaba”

Eu, \_\_\_\_\_, li e/ou ouvi o esclarecimento acima e compreendi para que serve o estudo e qual procedimento a queerei submetido. A explicação que recebi esclarece os riscos e benefícios do estudo. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação a qualquer momento, sem justificar a minha decisão/escolha.

Sei que meu nome não será divulgado, que não terei despesas e não receberei dinheiro por participar do estudo. Concordo em participar do estudo “Estudo epidemiológico de infecção humana por *Leishmania infantum* no município de Uberaba” e receberei uma via assinada deste documento.

Uberaba, ...../...../.....

\_\_\_\_\_  
Assinatura do participante

Documento de identidade: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador responsável

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador orientador

**Telefone de contato dos pesquisadores:**

Profa. Luciana de Almeida Silva Teixeira; 3318-5254; MSc Priscilla Elias Ferreira da Silva; 98805-9837.

Em caso de dúvida em relação a esse documento, favor entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, pelo telefone (34) 3700-6803, ou no endereço Rua Conde Prados, 191, Bairro Nossa Senhora da Abadia – Uberaba – MG – de segunda a sexta-feira, das 08:00 às 11:30 e das 13:00 às 17:30. Os Comitês de Ética em Pesquisa são colegiados criados para defender os interesses dos participantes de pesquisas, quanto a sua integridade e dignidade, e contribuir no desenvolvimento das pesquisas dentro dos padrões éticos.

Este documento deverá ser emitido em duas vias, uma para o participante e outra para o pesquisador.

Rubrica do participante	Data	Rubrica do pesquisador	Data

## ANEXO G – NÚMERO DA APROVAÇÃO DO PROJETO FAPEMIG



**Termo da solicitação**  
Edital Nº 01/2016 - Demanda Universal

**Processo:**  
APQ-01608-16

**Situação do processo:**  
Em Execução

**Natureza da solicitação:**  
Demanda Universal

**Data do documento:**  
05/11/2018 15:36:04

**Validador:**  
3D3A2DC1-E03D-4263-8D7C-1FA2EBE1D570

### Dados pessoais do coordenador

**Nome:**  
LUCIANA DE ALMEIDA SILVA TEIXEIRA

**Data de nascimento:**  
20/11/1973

**Naturalidade:**  
MINAS GERAIS

**CPF:**  
010.332.526-38

**Telefones de contato:**

Celular: (34)9674-8866 | Residencial: 34 33111558 | Comercial: 34 33185254

**E-mail:**

lalmeidas@dcm.ufmg.br

**Currículo Lattes:**

<http://lattes.cnpq.br/9160065216919649>

### Dados da Proposta

**Título:**

Otimização do diagnóstico precoce e do manejo de indivíduos com leishmaniose visceral em áreas endêmicas com diferentes perfis de transmissão e endemicidade

**Data de início:**  
17/03/2016

**Duração (meses):**  
24

**Área de conhecimento:**  
MEDICINA

**Sub-área de conhecimento:**  
DOENÇAS INFECCIOSAS E PARASITÁRIAS

**Resumo da Proposta:**

A leishmaniose visceral humana (LVH) possui prevalência e letalidade que motivam atenção específica para seu controle. O diagnóstico precoce e tratamento dos indivíduos doentes, constituem recomendações para esse fim. O presente projeto objetiva otimizar tais medidas em áreas endêmicas de Minas Gerais, com diferentes perfis de transmissão (Montes Claros, Paracatu e Lavras). Os pesquisadores possuem experiência de projetos nos três municípios. Para auxiliar nas intervenções e avaliar seus resultados, primeiramente será realizado um Diagnóstico Situacional de cada área. Constará de: - Levantamento e caracterização de casos de LVH nos últimos 5 anos, nas áreas de transmissão intensa, Paracatu e Montes Claros; - Levantamento dos domicílios com casos de leishmaniose visceral canina e identificação de indivíduos com sintomatologia compatível com LVH, na área sem endemicidade humana, Lavras. Estes levantamentos permitirão a criação de banco de informações clínicas, laboratoriais e de tratamento (quando aplicável) para cada área endêmica, avaliando suas especificidades. Para intervenção, será desenvolvido um aplicativo para uso em dispositivo móvel com as funções de: - Disponibilizar conteúdo teórico-prático para diagnóstico precoce e manejo de casos nas áreas endêmicas (levando em consideração as informações obtidas no diagnóstico situacional); Permitir contato rápido dos profissionais das áreas com especialistas para dúvidas diversas. Ademais, será disponibilizado, para validação em condições de campo, o Teste de Aglutinação Direta (DAT), teste sorológico com rápido resultado, já padronizado e com menor custo que o teste rápido rK39. Na área sem casos humanos, será buscado o diagnóstico dos infectados por meio do DAT, ELISA rK39 e PCR. A avaliação dessas ações focará nos aspectos: redução no tempo de diagnóstico de LVH, adesão e satisfação com uso do aplicativo, desempenho do DAT em condições de campo, diagnóstico precoce de LVH em área sem endemicidade humana.

**Palavra chave 1:**  
leishmaniose visceral

**Palavra chave 2:**  
controle

**Palavra chave 3:**  
diagnóstico

**Palavra chave 4:**  
teste de aglutinação direta

**Palavra chave 5:**  
aplicativo

**Palavra chave 6:**

## APÊNDICE A – FICHA DE COMORBIDADES



Ministério da Educação  
Universidade Federal do Triângulo Mineiro  
Comitê de Ética em Pesquisa – CEP

Rua Conde Prados, 191 – Abadia – 38025-260 – Uberaba-MG – Telefone (0\*\*34)3700-6803 – E-mail: cep@uftm.edu.br

### CEP/UFTM – PROTOCOLO DE PROJETO DE PESQUISA COM ENVOLVIMENTO DE SERES HUMANOS

(Este protocolo foi desenvolvido em consonância com as Resoluções 466/12 e 510/16 – do Conselho Nacional de Saúde (CNS) e Norma Operacional nº001/13 CNS).

### FICHA DE INVESTIGAÇÃO DE ASPECTOS CLÍNICOS – LV HUMANA

#### 1) IDENTIFICAÇÃO:

Nome do paciente: \_\_\_\_\_

Data de nascimento: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Município de residência: \_\_\_\_\_

Número do domicílio na pesquisa: \_\_\_\_\_

#### 2) COMORBIDADES:

Artrite (osteoartrite)	Sim ( )		Não ( )	Não sabe ( )
Osteoporose	Sim ( )		Não ( )	Não sabe ( )
Asma	Sim ( )		Não ( )	Não sabe ( )
Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica	Sim ( )		Não ( )	Não sabe ( )
Insuficiência cardíaca congestiva	Sim ( )		Não ( )	Não sabe ( )
Doença neurológica (EM; Parkinson)	Sim ( )	Qual: _____	Não ( )	Não sabe ( )
Diabetes <i>mellitus</i>	Sim ( )	Tipo: _____	Não ( )	Não sabe ( )
Doença do trato gastrointestinal	Sim ( )	Qual: _____	Não ( )	Não sabe ( )
Ansiedade ou síndrome do pânico	Sim ( )		Não ( )	Não sabe ( )
Depressão	Sim ( )		Não ( )	Não sabe ( )
Déficits visuais (catarata, glaucoma)	Sim ( )	Qual: _____	Não ( )	Não sabe ( )
Déficits auditivos	Sim ( )		Não ( )	Não sabe ( )
Obesidade e/ou IMC igual ou >30.	Sim ( )	Peso: _____	Não ( )	Não sabe ( )
HIV/AIDS	Sim ( )		Não ( )	Não sabe ( )
Infecções bacterianas	Sim ( )	Tipo: _____	Não ( )	Não sabe ( )
Problemas sanguíneos	Sim ( )	Qual: _____	Não ( )	Não sabe ( )
Hipertensão arterial	Sim ( )		Não ( )	Não sabe ( )
Outra Doença cardiovascular	Sim ( )		Não ( )	Não sabe ( )
Doença imunológica	Sim ( )	Qual: _____	Não ( )	Não sabe ( )

3) Você utiliza algum medicamento? ( ) Sim ( ) Não Se sim, qual? \_\_\_\_\_

4) Tem algum sintoma atualmente? ( ) Sim ( ) Não Se sim, qual? \_\_\_\_\_

Observações: \_\_\_\_\_

## APÊNDICE B – FATORES DE RISCO DOMICILIARES E PERIDOMICILIARES



Ministério da Educação  
Universidade Federal do Triângulo Mineiro  
Comitê de Ética em Pesquisa – CEP

Rua Conde Prados, 191 – Abadia – 38025-260 – Uberaba-MG – Telefone (0\*\*34)3700-6803 – E-mail: cep@uftm.edu.br

### CEP/UFTM – PROTOCOLO DE PROJETO DE PESQUISA COM ENVOLVIMENTO DE SERES HUMANOS

(Este protocolo foi desenvolvido em consonância com as Resoluções 466/12 e 510/16 – do Conselho Nacional de Saúde (CNS) e Norma Operacional nº001/13 CNS).

### ANÁLISE DOS FATORES DE RISCOS DOMICILIARES E PERIDOMICILIARES

#### IDENTIFICAÇÃO DO DOMICÍLIO

- 1) Número do domicílio na pesquisa: \_\_\_\_\_
- 2) Local da entrevista (Bairro): \_\_\_\_\_
- 3) Data da entrevista: \_\_\_\_\_
- 4) Nome do pesquisador: \_\_\_\_\_

#### PARTE I – DADOS GERAIS DO ENTREVISTADO

- 4) Sexo: ( ) Masculino ( ) Feminino
- 5) Trabalha: ( ) Sim ( ) Não ( ) Desempregado. Se “sim”, qual a atividade \_\_\_\_\_
- 6) Grau de instrução (colocar a última série que estudou): \_\_\_\_\_
- 7) Há quanto tempo mora nesta região? \_\_\_\_\_

#### PARTE II – CARACTERIZAÇÃO DOS DOMICÍLIOS

- 8) Quantos cômodos tem a sua casa? \_\_\_\_\_
- 9) Quantas pessoas vivem na casa? \_\_\_\_\_
- 10) Você tem animais? ( ) Sim ( ) Não  
Se sim, quais e quantos animais? \_\_\_\_\_  
Quais animais ficam dentro de casa? \_\_\_\_\_
- 11) Você tem horta e/ou pomar em casa? ( ) Sim ( ) Não
- 12) Você utiliza esterco de animais para adubar a horta e/ou pomar? ( ) Sim ( ) Não
- 13) Sua casa tem quintal? ( ) Sim ( ) Não.  
a) Se sim, tem entulho e/ou lixo acumulado no quintal? ( ) Sim ( ) Não  
b) Tem folhas secas acumuladas? ( ) Sim ( ) Não  
c) Qual a frequência de limpeza do quintal? ( ) Diária ( ) Semanal ( ) Mensal ( ) Não é limpo

#### PARTE III – PERGUNTAS SOBRE LEISHMANIOSE VISCERAL

- 14) Você já ouviu falar sobre leishmaniose visceral? ( ) Sim ( ) Não. Se sim, onde ouviu falar sobre leishmaniose visceral? \_\_\_\_\_
- 15) Aqui em Uberaba, como a leishmaniose visceral também é conhecida? \_\_\_\_\_
- 16) Você conhece alguém que já teve leishmaniose visceral? ( ) Sim ( ) Não. Se “sim”, quem \_\_\_\_\_
- 17) Você se recorda de algum trabalho sobre a Leishmaniose aqui em Uberaba? ( ) Sim ( ) Não ( ) Não sabe  
Se sim, qual foi o trabalho? \_\_\_\_\_
- 18) Gostaria de fazer algum comentário? \_\_\_\_\_

## APÊNDICE C – TERMO DE RESPONSABILIDADE ARMADILHAS

### TERMO DE RESPONSABILIDADE E AUTORIZAÇÃO

**ESTUDO:** INVESTIGAÇÃO DA FAUNA FLEBOTOMÍNICA E ASPECTOS AMBIENTAIS QUE RELACIONAM A TRANSMISSÃO DA LEISHMANIOSE VISCERAL NO MUNICÍPIO DE UBERABA, MINAS GERAIS, BRASIL

Data da instalação: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Ponto/Endereço/bairro: \_\_\_\_\_

Esta pesquisa tem como objetivo investigar a presença de um inseto popularmente conhecido como “mosquito palha” e cientificamente conhecido como flebótomo, o qual está envolvido na transmissão da Leishmaniose Visceral. Apesar de não haver casos de transmissão no município de Uberaba, essa doença se configura em um grande problema de saúde pública em que as pessoas podem se infectar em suas próprias casas ao serem picadas por este mosquito, uma vez haja a sua ocorrência. Esse mosquito possui hábito crepuscular e noturno. Sua atividade de alimentação começa ao entardecer e atinge seu pico entre 21 e 23 horas, quando ocorre decréscimo de insetos e o desaparecimento entre 5 e 6 horas da manhã. Será investigado, portanto, a presença desses insetos no ambiente peridomiciliar e se os mesmos se encontram infectados com o agente etiológico da doença (Lopes, E. G. P., 2013).

**Procedimentos:** serão realizadas capturas dos insetos com auxílio de armadilhas luminosas que permitem detectar a presença do vetor na área de estudo. As armadilhas serão instaladas por um período de **três noites consecutivas, mensalmente** em sua residência, no ambiente peridomiciliar (quintal e abrigos de animais). Elas serão ligadas ao entardecer (**16-18 horas**) e desligadas/retiradas pela manhã, às **6-8 horas**.

Eu, \_\_\_\_\_, portador(a) do RG/CPF \_\_\_\_\_, autorizo a instalação de armadilha para captura de insetos em minha propriedade, por três noites consecutivas, em coletas mensais durante um período de 12 meses. Estou ciente que a coleta tem como objetivo investigar a presença de vetores de interesse em saúde pública. Estou ciente que será necessário que haja uma pessoa maior de idade para autorizar a instalação e desinstalação das armadilhas durante o período de coleta que serão nos horários entre 16h e 18h, e 6h e 8h, respectivamente. Estou ciente que essa coleta não gerará nenhum custo e que não receberei nenhum pagamento por participar do estudo. Eu estou ciente e autorizo a instalação das armadilhas em minha propriedade de acordo com os termos acima descritos.

Uberaba, \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Telefone para contato: \_\_\_\_\_

Discente responsável pela pesquisa: Priscilla Elias Ferreira da Silva

Telefone: (34) 98805-9837

Assinatura do responsável pela pesquisa: \_\_\_\_\_

## APÊNDICE D – CALENDÁRIO COLETAS SISTEMATIZADAS

### CRONOGRAMA – CAPTURA SISTEMATIZADA DE FLEBOTOMÍNEOS – UBERABA/MINAS GERAIS

Outubro 2021							Feriados/Coletas
S	T	Q	Q	S	S	D	
				1	2	3	
4	5	6	7	8	9	10	
11	12	13	14	15	16	17	Nossa Sra Aparecida
18	19	20	21	22	23	24	Servidor Público
25	26	27	28	29	30	31	Coleta Sistemática

Novembro 2021							Feriados/Coletas
S	T	Q	Q	S	S	D	
1	2	3	4	5	6	7	Feriados
8	9	10	11	12	13	14	Proclamação da República
15	16	17	18	19	20	21	Dia da Consciência Negra
22	23	24	25	26	27	28	Coleta Sistemática
29	30						

Dezembro 2021							Feriados/Coletas
S	T	Q	Q	S	S	D	
		1	2	3	4	5	
6	7	8	9	10	11	12	
13	14	15	16	17	18	19	
20	21	22	23	24	25	26	Coleta Sistemática
27	28	29	30	31			Natal

Janeiro 2022							Feriados/Coletas
S	T	Q	Q	S	S	D	
					1	2	Confraternização Universal
3	4	5	6	7	8	9	
10	11	12	13	14	15	16	
17	18	19	20	21	22	23	
24	25	26	27	28	29	30	Coleta Sistemática
31							

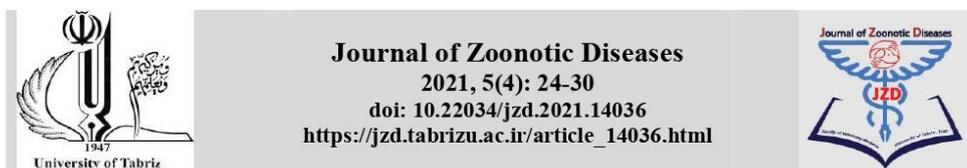
Fevereiro 2022							Feriados/Coletas
S	T	Q	Q	S	S	D	
	1	2	3	4	5	6	
7	8	9	10	11	12	13	
14	15	16	17	18	19	20	
21	22	23	24	25	26	27	Coleta Sistemática
28							Carnaval

Março 2022							Feriados/Coletas
S	T	Q	Q	S	S	D	
	1	2	3	4	5	6	Recesso Carnaval
7	8	9	10	11	12	13	Dia da Mulher
14	15	16	17	18	19	20	
21	22	23	24	25	26	27	
28	29	30	31				Coleta Sistemática



## APÊNDICE E – ARTIGO BIOMIMÉTICA



### Original Article

#### **Is it possible to consider the control of human Visceral Leishmaniasis from the perspective of Biomimetics?**

**Priscilla Elias Ferreira da Silva<sup>1\*</sup>, Nicole Zanzarini Sanson<sup>2</sup>, Leandro de Godoi Pinton<sup>3</sup>,  
Luciana de Almeida Silva Teixeira<sup>1</sup>**

- 1- Department of Tropical Medicine and Infectology, Federal University of Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba, Minas Gerais, Brazil.
- 2- Medicine, Federal University of Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba, Minas Gerais, Brazil.
- 3- Department of Geography, Federal University of Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba, Minas Gerais, Brazil.

\*Corresponding author: [priefsilva@gmail.com](mailto:priefsilva@gmail.com)

(Received 16 October 2021, Accepted 21 December 2021)

#### **Summary**

As an insidious disease, Visceral Leishmaniasis (VL), is considered a serious public health issue that affects Brazil in almost its totality. This study evaluated the endemicity of VL in municipalities in the State of Minas Gerais in a historical series from the perspective of Biomimetics Science. A retrospective analysis was carried out between 2010 and 2019 of VL cases registered in the National System of Reported Diseases (Sistema de Informação de Agravos de Notificação - SINAN). In the studied period, 4,834 cases of the disease were reported in Minas Gerais. The cities of Belo Horizonte and Montes Claros were identified as the locations with the most expressive numbers of cases. The absence or reduced endemicity of the disease in the west and extreme south of the state of Minas Gerais was detected in the period analyzed. It is suggested that, over the time, there are areas that control the transmission of the disease by itself. Considering the principle of biomimetics, it would be important to identify that in these areas without the disease, which elements can be learned from nature to direct LV control actions.

**Keywords:** Visceral Leishmaniasis, Biomimetics, Endemicity, Minas Gerais, Brazil.

#### **Introduction**

Visceral Leishmaniasis (VL) is a relevant public health issue in Brazil due to the recent expansion of endemic areas affected by the disease, rare studies in the literature, and the increased lethality, which was 7,7% in 2019 (OPAS, 2020; Donato et al., 2020). The fatal outcome is associated with late diagnosis and, therefore, delayed treatment at an advanced stage of the disease. There are several factors contributing to the delay in the diagnosis of VL, including the population's lack of knowledge

about the possibility of the transmission in their municipalities, also the lack of information from health teams about the clinical characteristics of the disease and methods available for confirmation.

It is an anthrozoosis that is transmitted by insects of the Phlebotominae family, known as sandflies, and is caused by protozoa of the genus *Leishmania*. The predominant species that causes VL in Brazil is *L. (L.) infantum* (OPAS, 2019). The vector responsible for transmission is well adapted to the urban environment and widespread

Copyright© 2021, Published by University of Tabriz. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY NC).

throughout Brazil (Marconde and Rossi, 2013; Maroli et al., 2013). The increase in the diffusion and density of the sandflies is a result of the expansion of breeding sites, blood sources, human migrations, the effects of deforestation, and climate changes (Marcondes and Rossi, 2013). These factors can lead to outbreaks, and it could also be related to the risks of emergency and re-emergence of the disease (Costa et al., 1990; Rosas Filho and Silveira, 2007; Oryan and Akbari, 2016; Reis et al., 2017). In Latin America, the main transmitting species is *Lutzomyia longipalpis* that in addition to having a wide geographic distribution, is well adapted to the peridomestic environment (Lainson and Rangel, 2005). Among the reservoir hosts, the dog stands out in the domestic cycle. When asymptomatic, they are sources of infection for the vectors (Carvalho et al., 2018; Marcondes and Day, 2019).

Humans, once infected with *Leishmania*, may not present any clinical manifestations, and it is estimated that this condition is related to most asymptomatic cases (Ferreira-Silva et al., 2018). When the manifestation occurs, the individual classically presents with persistent fever, visceromegaly (especially splenomegaly), and skin-mucosal pallor. Severe cases can evolve with hemorrhagic phenomena, associated bacterial infection, edema, and jaundice among others (Maia-Elkhoury et al., 2021). According to the literature, children with compromised nutritional status can be a source of infection, increasing the complexity of the transmission cycle and extension of the VL problem (Silva and Prata, 2018; Da Silva et al., 2020).

According to the epidemiological report of the Americas (OPAS, 2020), Brazil is among the countries that registered the highest case numbers, with an incidence of 4.84 (Triennium VL composite indicator 2017-2019). In 2019, there were 2,529 records with 304 cases registered in the State of Minas Gerais.

The VL is included among the Neglected Tropical Diseases (NTD), especially because it affects marginalized populations in places with scarce

resources, requiring intersectoral and collaborative efforts from all human health systems with a multidisciplinary approach.

In most distribution maps of human VL cases in Brazil, there are areas in which the disease does not establish in a permanent way. Expanding the level of spatiotemporal detail of these observations can provide subsidies for understanding the role of environmental conditions in the dynamics (e.g., non-permanent installation) of human VL.

Therefore, Biomimetics (science that finds inspiration and optimized solutions for projects from different areas of knowledge in nature's content) is able to relate directly to the Leishmaniasis complex, as natural factors such as climatic conditions, habitat levels, social, and temporal conditions are linked to how the disease does not spread into silent areas. These parameters lead us to reflect, for instance, how the fitness (or reproductive success) of sandflies is associated with the maintenance of VL in Brazil (Meira, 2008; Detanico et al., 2010).

In this context, this study aimed to evaluate the endemicity of human VL in the municipalities of Minas Gerais in a recent historical series, with the perspective of contributing to the reflection on surveillance, prevention, and control measures of the perspective of Biomimetics.

### Methods

A retrospective analysis of confirmed VL cases in the State of Minas Gerais was fulfilled. As the disease demands compulsory notification in Brazil, the data has been extracted from the National System of Reported Diseases (Sistema de Informação de Agravos de Notificação - SINAN), and the period surveyed was between 2010 and 2019 (last year with data available in a consultation fulfilled out in March 2021) (SINAN, 2021). This database search was based on the checklist RECORD (*Reporting of studies Conducted using Observational Routinely-collected Data*), defined as a guideline for studies using health database

(<http://www.record-statement.org/checklist.php>).

Among the registration fields of the SINAN VL investigation form, the following data were collected: date and place of notification, age, gender, race, HIV coinfection, diagnostic method, confirmation criteria, autochthonous cases, and evolution.

The study data were tabulated in Microsoft Excel® 2010 program. The results were analyzed descriptively and expressed in maps. To illustrate the spatial and temporal distribution of the disease, graduated symbol maps were created in ArcGIS® 10.6 software. This cartographic representation was based on the indication of the numerical attribute of the disease (number of confirmed autochthonous cases) by the municipality in the state of Minas Gerais throughout the 2010-2019 historical series. The municipal mesh of Minas Gerais was extracted from the digital vector database

(<https://www.ibge.gov.br/geociencias/organizacao-do-territorio/>) of the Brazilian Institute of Geography and Statistics (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE) (IBGE, 2021).

### Results

In the period 2010-2019, 4,834 VL cases were registered in Minas Gerais. The years 2017 and 2010 presented, respectively, the highest numbers of confirmed cases, comprising 861 and 578 notifications. The municipality of Belo Horizonte occupied the 1<sup>st</sup> position throughout the series, with 1,625 cases. The 2<sup>nd</sup> position was occupied by Montes Claros, with 715 cases. These municipalities are followed by the total cases reported in the cities of Governador Valadares (227), Ipatinga (221), Araçuaí (120), and Paracatu (103). In addition to these high numbers in the period, there is a large amount of municipalities with up to 5 confirmed autochthonous cases.

The analysis of the maps (Figure 1) reveals two consistent templates of distribution of confirmed cases in Minas Gerais: (i) high concentration in the central and northern areas of the state and, (ii) the absence or reduced endemicity for VL in the west and extreme south of the state.

When considering the profile of the affected individuals, the autochthonous cases, and the existence of coinfection with HIV, it was observed that men were the most affected by the disease, with 3,117 (64.48%) cases. The age group between 40 and 59 years old was the most affected, representing 1,176 (24.32%) cases, followed by the age between 20 and 39 years old with 1,148 (23.74%) cases and children between 1 and 4 years old with 879 (18.18%) confirmations. The brown (refers to “pardo”) race/color corresponded to 2,635 (54.50%) cases. The HIV coinfection cases represented 518 (10.71%) cases during the study period. Table 1 (supplementary file) shows the variables analyzed between 2010- 2019.

One thousand six hundred eighty-one (1,681) individuals were submitted to parasitological examination, of which 1,276 (75.09%) were positive. Two thousand five hundred forty-one (2,541) patients were diagnosed by serological method, obtaining 2,151 (84.65%) positive results. The clinical-epidemiological criterion was used for the institution of specific therapy in 314 cases, while the laboratory criterion (by complementary exams) was adopted in 4,519; one case had this field filled out.

From the total number of cases in the period, 3,896 evolved to cure, and 483 died from VL, resulting in a lethality rate of 12.4% in the period studied.

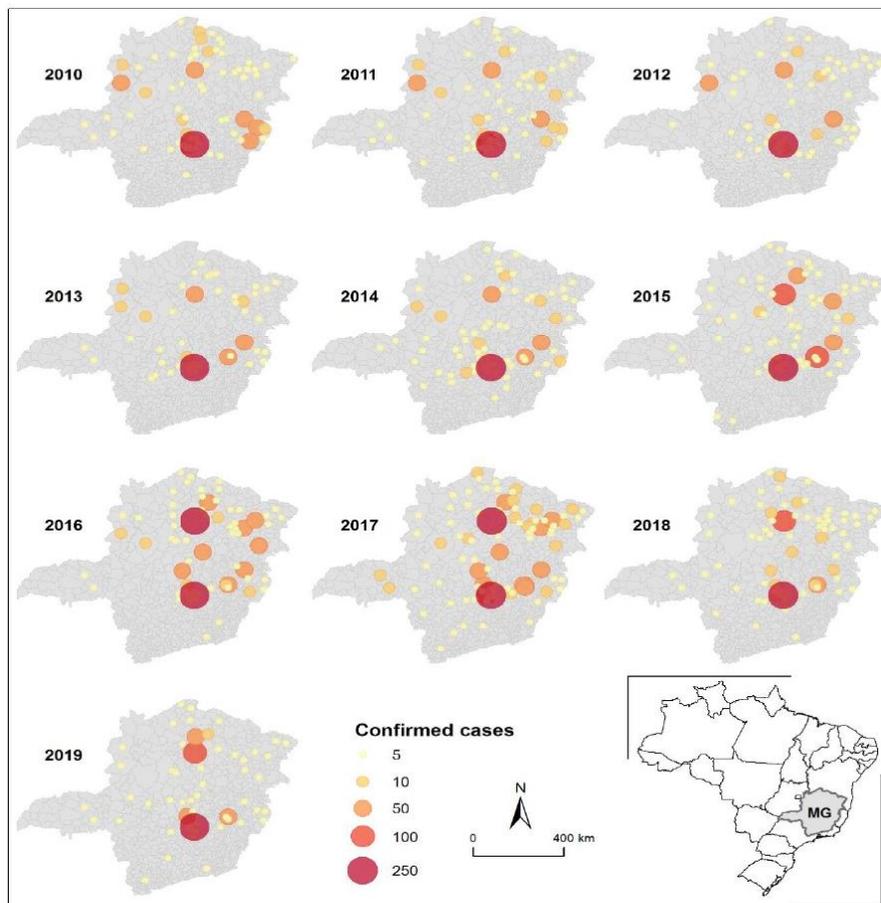
### Discussion

According to Meira (2008), Biomimetics Science (from *bios*, meaning life, and *mimesis*, meaning imitation) is constituted by an innovative method that seeks sustainable solutions following the example of nature, in which it uses templates and survival strategies of biological systems. The aim of this method is to create sustainable development products, processes, and policies inspired by ways of life that are well adapted to life on Earth during a long period of evolution of living beings (Guild, 2007).

Therefore, thinking about the process of urbanization of VL in Brazil from this premise is

fundamental in the development of strategies to reconsider the control measures for this disease. In Minas Gerais, the first human cases of the VL were reported in large and medium-sized cities, such as Belo Horizonte and Montes Claros (Silva et al., 2001; Sousa et al., 2008). In the present study, it was observed that the number of VL cases suffered few changes over the years evaluated (exceptions for 2017 and 2010). However, there

was a significant expansion of the disease to other medium-sized urban centers, and especially in small cities. Despite the emergence of new areas with the sustained transmission of human VL, it is possible to observe that, in some sectors of the state, the disease has not established itself significantly over the ten years, especially in the west and extreme south of Minas Gerais.



**Fig. 1.** Spatial and temporal distribution of VL in the state of Minas Gerais, 2010-2019 (Source: Elaborated by the authors).

Such areas have distinct physiographic and climatic characteristics. The west of the state has moderate altitudes (range ~ from 350 to 750 m), while the extreme south involves more rugged ground (elevations from 750 to ~2,900 m). According to the climate classification by Köppen and Geiger (1954), the Aw type (hot climate with summer rain) is predominant in the west of the state, and the Cwa type (temperate climate with hot and humid summer) in the extreme south (Dubreuil et al., 2017). The physical-natural differences found between the areas denote the nonexistence of a direct association between the effects of these aspects in the dynamics of VL endemicity. However, this first qualitative approach does not allow the exclusion of the influence of these aspects or other abiotic factors in VL transmission. The pronounced and persistent concentration of the cases in the north of the Minas Gerais is converging with the public health issue that is the spread of the disease in the whole country, thereby especially affecting the most socioeconomically vulnerable populations (Brasil, 2006; Maia-Elkhoury et al., 2008; Morais, 2020).

In the last ten years, the most expressive rates of prevalence were observed in municipalities (e.g., Belo Horizonte, Montes Claros, and Paracatu) that are known due to the presence of studies on the vector responsible for transmission cohabiting with domestic animals, a situation that favors its adaptation (Michalsky et al., 2009; Dias et al., 2011). However, when the Human Development Index (HDI) of these municipalities is analyzed, differences between them are revealed. The HDI is related to how each region endures demands related to the education, income, and health indicators. Thus, Belo Horizonte has an HDI of 0.810, Montes Claros 0.770, and Paracatu 0.744. All of them are above the state index, currently at 0.731 (IBGE, 2019). Therefore, in this small analysis of the social condition, a specific pattern of vulnerability was not identified, as there is practically no difference between the social

conditions of the endemic and non-endemic municipalities of VL.

Bruhn et al. (2018) reinforced in their study the need to understand the ecoepidemiology of VL and its social determinants, considering the specific characteristics of the affected region. Morais et al. (2020) emphasized that in the last 30 years, VL has become a challenge to surveillance and control programs implemented in Brazil, once the country is responsible for more than 95% of notifications in the Americas, reflecting the failure in the effectiveness of these actions (Ribeiro et al., 2013; Morais et al., 2020).

The data on the spatiotemporal distribution of human VL cases reported in Minas Gerais along with a recent historical series (2010-2019) demonstrates that the disease is still a serious public health issue in the state. At the same time, the qualitative approximation of physical-natural aspects of areas in Minas Gerais does not show a direct causal relationship with the absence (or reduced) sustained transmission of human VL, but it reinforces the need for investigations into the particular patterns of influence of these aspects and other aspects at a local scale. It is believed that the combination of several factors determines the installation-dissemination of VL or the limitation of transmission of this infection in one location. The control measures currently recommended in Brazil are based on interventions directed at areas with high transmission and considered endemic for the disease. Thus, actions are directed towards early diagnosis and treatment of human cases, vector control through environmental management and the use of insecticides in endemic areas, and the canine investigation followed by euthanasia or treatment with a close follow-up of the animal conditions.

### Conclusion

The reflection on the ineffectiveness of these measures from the perspective of biomimetics is to turn the design of control measures to areas without transmission, which remain stable over the years,

as it was possible to verify in this study. A more in-depth look is necessary to find out what are the potential solutions of nature so that the disease does not install itself in certain regions. It should bring elements for innovation in control measures. In this sense, a greater knowledge with more detailed information about these natural aspects and their forms of interaction can help define the best ways to contain the progression of the infection, with the proposal of sustainable control measures applicable in each situation.

#### Acknowledgements

Not applicable.

#### Ethics approval

Not applicable.

#### Conflict of interest statement

The authors declare no conflicts of interest.

#### References

- Brazil. Ministry of Health. Secretary of Vigilância em Saúde. Epidemiological Surveillance Department. Manual of surveillance and control of visceral leishmaniose. Brasília: Ministry of Health; 2006.
- Bruhn F., Morais M., Bruhn N., Cardoso D., Ferreira F., Rocha C. Human visceral leishmaniasis: Factors associated with deaths in Belo Horizonte, Minas Gerais state, Brazil from 2006 to 2013. *Epidemiology and Infection*. 2018, 146(5), 565-70.
- Carvalho A. G., Luz J. G. G., Rodrigues L. D., Dias J. V. L., Fontes C. J. F. High seroprevalence and peripheral spatial distribution of visceral leishmaniasis among domestic dogs in an emerging urban focus in Central Brazil: a cross-sectional study. *Pathogens and Global Health*. 2018, 112(1), 29-36.
- Costa C. H. N., Pereira H. F., Araújo M. V. Epidemia de Leishmaniose Visceral no estado do Piauí, Brasil 1980-1986. *Revista de Saúde Pública / Universidade de São Paulo*, 1990, 24(5), 361-72.
- Da Silva T. A. M., Morais M. H. F., Lopes H. M. de O. R., Gonçalves S. A., Magalhães F. do C., Amâncio F. F., Cameiro M. Prognostic factors associated with death from visceral leishmaniasis: a case-control study in Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 2020, 114(5), 346-54.
- Detanico F. G., Teixeira T. K., Silva A. Biomimética como Método Criativo para o Projeto de Produto. *Design & Tecnologia*. 2010, 1(02), 101-13.
- Dias E. S., Regina-Silva S., França-Silva J. C., Paz G. F., Michalsky E. M., Araújo S. C., Valadão J. L. O., Lara-Silva F., de O. F. S., Pacheco R. S., Fortes-Dias C. L. Eco-epidemiology of visceral leishmaniasis in the urban area of Paracatu, state of Minas Gerais, Brazil. *Veterinary Parasitology*. 2011, 176(2-3), 101-11.
- Donato L. E., Freitas L. R. S., Duarte E. C., Romero G. A. S. Visceral leishmaniasis lethality in Brazil: an exploratory analysis of associated demographic and socioeconomic factors. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2020, (53), 1-8.
- Dubreuil V., Pechutti Fante K., Planchon O. & Neto J. L. S. a. Les types de climats annuels au Brésil : une application de la classification de Köppen de 1961 à 2015. *EchoGéo*, 2017, (41), 1-27.
- Ferreira-Silva M. M., Teixeira L. A. S., Tibúrcio M. S., Pereira G. A., Rodrigues V., Palis M., Moraes-Souza H. Socio-epidemiological characterization of blood donors with asymptomatic *Leishmania infantum* infection from three Brazilian endemic regions and analysis of the transfusional transmission risk of visceral leishmaniasis. *Transfusion Medicine*. 2018, 28(6), 433-39.
- Guild, B. *Innovation Inspired by Nature Work Book*, Biomimicry Guild, April 2007. <https://biomimicry.org/>
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – (IBGE). Censo demográfico 2019. Índice de Desenvolvimento Humano Brasil. <https://www.ibge.gov.br/busca.html?searchword=IDH&searchphrase=all>.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – (IBGE). Censo demográfico 2019. Panorama da população. [https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv101707\\_informativo.pdf](https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv101707_informativo.pdf).
- Köppen W., Geiger R. Klima der Erde (*climate of the earth*). Wall map 1:16 mill, Klett-Perthes, Gotha. 1654. [http://koeppen-geiger.vu-wien.ac.at/pics/Geiger\\_1954\\_Map.jpg](http://koeppen-geiger.vu-wien.ac.at/pics/Geiger_1954_Map.jpg)
- Lainson R., Rangel E. F. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular

- reference to Brazil: a review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 2005, 100(8), 811-27.
- Maia-Elkhoury A. N. S., Alves W. A., Sousa-Gomes M. L., Sena J. M., Luna E. A. Visceral leishmaniasis in Brazil: trends and challenges. *Cadernos de Saúde Pública*. 2008, 24(12), 2941-7.
- Atlas interativo de leishmaniose nas Américas: aspectos clínicos e diagnósticos diferenciais. Washington, D.C.: Organização Pan-Americana da Saúde, 2021. <https://doi.org/10.37774/9789275721902>.
- Marcondes M., Day M. J. Current status and management of canine leishmaniasis in Latin America. *Research in Veterinary Science*. 2019, 123(2019), 261-72.
- Marcondes M., Rossi C. N. Visceral leishmaniasis in Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 2013, 50(5), 341-52.
- Maroli M., Feliciangeli M. D., Bichaud L., Charrel R. N., Gradoni L. Phlebotomine sandflies and the spreadin of leishmaniasis and other diseases of public health concern. *Medical and Veterinary Entomology*, 2013, 27(2), 123-47.
- Meira G. L. A Biomimética utilizada como ferramenta alternativa na criação de novos produtos. *II Encontro de Sustentabilidade em Projeto do Vale do Itajaí*, 2008.
- Michalsky E. M., Fortes-Dias C. L., França-Silva J. C., Rocha M. F., Barata R. A., Dias E. S. Association of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) population density with climate variables in Montes Claros, an area of American visceral leishmaniasis transmission in the state of Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2009, 104(8), 1191-3.
- Morais M. H. F., Sabroza P. C., Pessanha J. E., Sobral A. Visceral leishmaniasis control actions: epidemiological indicators for its effectiveness evaluation in a Brazilian urban area. *Cadernos de Saúde Pública*. 2020, 36(6), 1-10.
- Organização Pan-Americana da Saúde – (OPAS). *Leishmanioses: Informe Epidemiológico nas Américas*: Washington: Organização Pan-Americana da Saúde; 2019, <https://iris.paho.org/handle/10665.2/51738>.
- Organização Pan-Americana da Saúde - (OPAS). *Leishmanioses: Informe epidemiológico nas Américas*. Washington, D.C.; 2020. <https://iris.paho.org/handle/10665.2/51742>.
- Oryan A., Akbari M. Worldwide risk factors in Leishmaniasis. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 2016, 9(10), 925-32.
- Reis L. L., Balieiro A. A. S., Fonseca F. R., Gonçalves M. J. F. Changes in the epidemiology of visceral leishmaniasis in Brazil from 2001 to 2014. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 2017, 50(5), 638-45.
- Ribeiro V. M., da Silva S. M., Menz I., Tabanez P., Nogueira F. dos S., Werkhaüser M., Dantas-Torres F. Control of visceral leishmaniasis in Brazil: recommendations from Brasileish. *Parasites & Vectors*. 2013, 6(1), 8.
- Rosas Filho M. S., Silveira F. T. Epidemiologia, clínica e imunologia da infecção humana por *Leishmania* (*Leishmania*) infantum chagasi em área endêmica de Leishmaniose Visceral no Pará. *Revista Paraense de Medicina*, 2007, 21(3), 7-18.
- Silva E. S., Gontijo C. M. F., Pacheco R. S., Fiuza V. O. P., Brazil R. P. Visceral Leishmaniasis in the Metropolitan Region of Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2001, 96(3), 285-91.
- Silva L. A., Prata A. Calazar. In: Coura J. R. *Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias*. 2. ed. – [Reimpr.]. – Rio de Janeiro: Guanabara Koogan 2018, 761-79.
- Sistema de Informação de Agravos de Notificação - (SINAN). Sinan Net – Ministério da Saúde/SVS - Dados coletados em março de 2021. <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sinanet/cnv/leishvmg.def>
- Sousa R. G., Santos J. F., Rodrigues H. G., Aversi-Ferreira T. A. Casos de leishmaniose visceral registrados no município de Montes Claros, Estado de Minas Gerais. *Acta Scientiarum. Health Sciences*. 2008, 30(2), 155-59.