

O Gênero *Leishmania* e as Leishmanioses

Silvia Reni B. Uliana ■ Maria Odete Afonso ■ Jeffrey J. Shaw

Introdução

As leishmanioses constituem um grupo de doenças causadas por protozoários do gênero *Leishmania*, que pertence ao subgrupo taxonômico Kinetoplastea. Mais de 20 espécies nesse gênero foram descritas como agentes etiológicos de doenças humanas. Dos nove países da Comunidade dos Países de Língua Portuguesa (CPLP), apenas Brasil e Portugal registraram a ocorrência de leishmaniose. Porém, é possível que ocorra também em Angola, Moçambique e Guiné-Bissau. Esses são países com sistemas de saúde atualmente carentes e que fazem fronteira com regiões onde a doença já foi encontrada (Namíbia, fronteira com Angola e Moçambique) ou é endêmica (Senegal, que faz fronteira com Guiné-Bissau). As diferentes formas clínicas podem ser agrupadas em leishmaniose tegumentar e visceral. As leishmanioses são endêmicas em 97 países, distribuídos na América, na África, na Ásia e na Europa, com cerca de 600.000 a 1 milhão de casos novos de leishmaniose cutânea e por volta de 50.000 a 90.000 novos casos de leishmaniose visceral a cada ano. Uma grande concentração de casos de leishmaniose visceral ocorre em apenas sete países: Brasil, Etiópia, Índia, Quênia, Somália, Sudão e Sudão do Sul. Os países com maior incidência de leishmaniose cutânea nos últimos anos são: Afeganistão, Argélia, Brasil, Colômbia, Irã e Síria.

No Brasil, a epidemiologia da leishmaniose tem-se alterado nas últimas décadas. Com frequência cada vez maior, identificam-se novos focos de transmissão em áreas urbanas, decorrentes da adaptação do inseto vetor a esses ambientes. Até o século XX, a leishmaniose visceral concentrava-se principalmente na região Nordeste, enquanto a transmissão de leishmaniose tegumentar estava relacionada preferencialmente com áreas com mata preservada, como a Amazônia e a faixa litorânea que compõe a Mata Atlântica. Atualmente, ocorre transmissão autóctone das leishmanioses em todos os estados brasileiros. Surto epidêmico recentes em capitais de estado, como Belo Horizonte e Recife, bem como no noroeste do estado de São Paulo, mostram que as leishmanioses estão em franca expansão geográfica. A urbanização da leishmaniose visceral, alastrando-se por cidades como Teresina, Belo Horizonte, Campo Grande e Araçatuba, é motivo de grande preocupação entre os profissionais de saúde pública (Harhay et al., 2011). Apesar de ser uma doença de notificação compulsória, o caráter crônico das leishmanioses, as dificuldades no diagnóstico e a ocorrência de casos em regiões remotas do país fazem crer que exista grande subnotificação. As estatísticas do Ministério da Saúde relatam uma incidência média anual de

21.275 casos de leishmaniose tegumentar e 3.713 casos de leishmaniose visceral no período de 2007 a 2018 (Figura 7.1). A carga global de leishmaniose visceral no Brasil (*global disease burden*) aumentou consideravelmente no período de 1990 a 2016, verificando-se um importante aumento em parâmetros como o número de anos perdidos (YLL, do inglês *years of life lost*) e de anos vividos com incapacidade (YLD, do inglês *years lived with disability*), resultando em um aumento de 86% no número de anos de vida perdidos ajustados por incapacidade (DALY, do inglês *disability adjusted life years*) (Bezerra et al., 2018).

Aspectos biológicos

Os hospedeiros das espécies de *Leishmania* são diversos vertebrados mamíferos silvestres ou domésticos; o ser humano é um hospedeiro acidental. Os animais mais frequentemente infectados são os roedores e os canídeos, principais reservatórios do parasito. A maioria das infecções em animais silvestres é assintomática. Classicamente, o ser humano adquire a doença ao adentrar áreas silvestres onde o ciclo de *Leishmania* ocorre sem prejuízo para a saúde dos animais ou dos insetos vetores.

Os protozoários do gênero *Leishmania*, que hoje é dividido em quatro subgêneros (Espinosa et al., 2018), pertencem, junto com *Trypanosoma*, ao subgrupo Kinetoplastea do grupo Euglenozoa, supergrupo Excavata (Adl et al., 2005). A

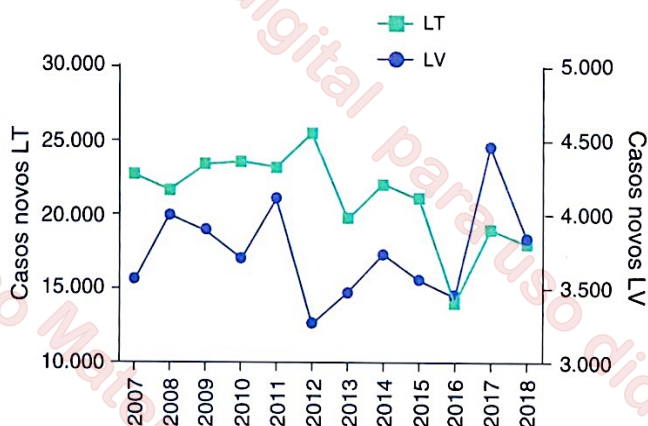


FIGURA 7.1 Incidência anual de leishmaniose visceral (LV) e leishmaniose tegumentar (LT) no Brasil, no período de 2007 a 2018. Adaptada de dados do Ministério da Saúde (Brasil, 2020a; 2020b).

principal espécie causadora de leishmaniose tegumentar no Brasil, tanto em número de casos como em distribuição geográfica, é *Leishmania (Viannia) braziliensis*. Outras espécies que também ocorrem, especialmente na região amazônica do Brasil, são *Leishmania (Leishmania) amazonensis* e *L. (V.) guyanensis* junto com menor número de casos de infecção por *L. (V.) shawi*, *L. (V.) naiffi*, *L. (V.) lainsoni* e *L. (V.) lindenbergi*. A leishmaniose visceral, por outro lado, é causada no Brasil pela espécie *L. (L.) infantum chagasi* (Lainson; Shaw, 1987).

O ciclo de vida dos protozoários do gênero *Leishmania* é heteroxeno, envolvendo um hospedeiro mamífero e um inseto (Figura 7.2). Os insetos vetores são pequenos dípteros que pertencem aos gêneros *Phlebotomus*, na Europa, no Oriente Médio, na Ásia e na África (Velho Mundo) e a vários gêneros nas Américas (Novo Mundo), como *Lutzomyia*, *Nyssomyia* e *Psychodopygus* (Galati 2018). As leishmânias são transmitidas entre os hospedeiros mamíferos pela picada do flebotomíneo fêmea.

As diversas espécies de *Leishmania* compartilham muitas características de seu ciclo de vida. Enquanto parasitam o inseto vetor, sobrevivem sob a forma promastigota, alongada e com um único flagelo, que emerge na região anterior da célula (Figura 7.3). O flagelo origina-se a partir do *cinetoplasto*, região especializada da única mitocôndria encontrada nesses parasitos, que caracteriza os protozoários do subgrupo Kinetoplastea. O cinetoplasto contém grande quantidade de DNA extranuclear, organizado em moléculas circulares: os maxicirculos, que apresentam genes que codificam principalmente enzimas mitocondriais, e os minicirculos, presentes em milhares de cópias e que dão origem aos RNA guias, pequenos transcritos responsáveis pelo fenômeno de *edição de RNA*. A edição de RNA, encontrada em diversos tripanossomatídeos, é o mecanismo pelo qual transcritos primários de diversos genes mitocondriais têm resíduos de uridina acrescentados ou removidos depois da transcrição. Nos promastigotas são também encontradas outras organelas citoplasmáticas presentes

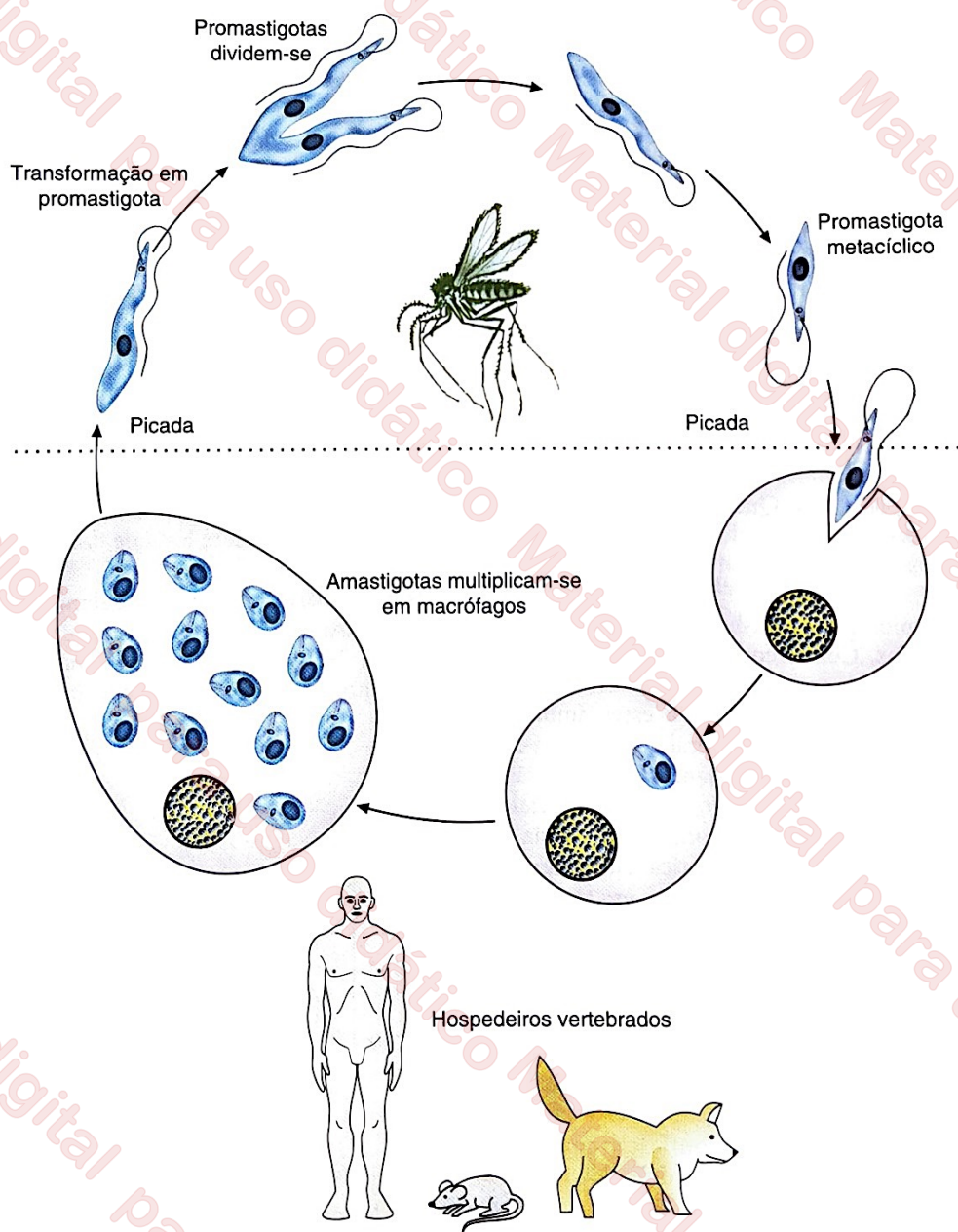


FIGURA 7.2 Ciclo de vida das leishmânias.

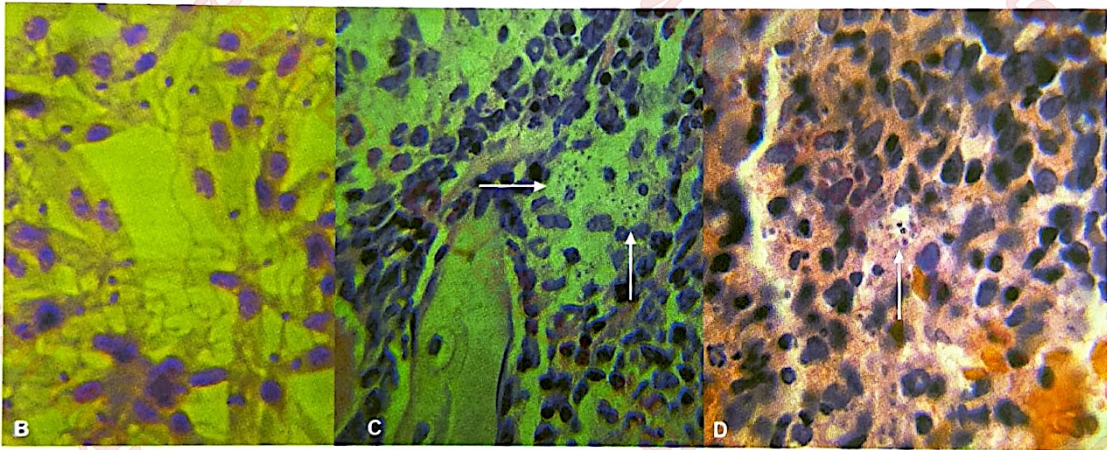
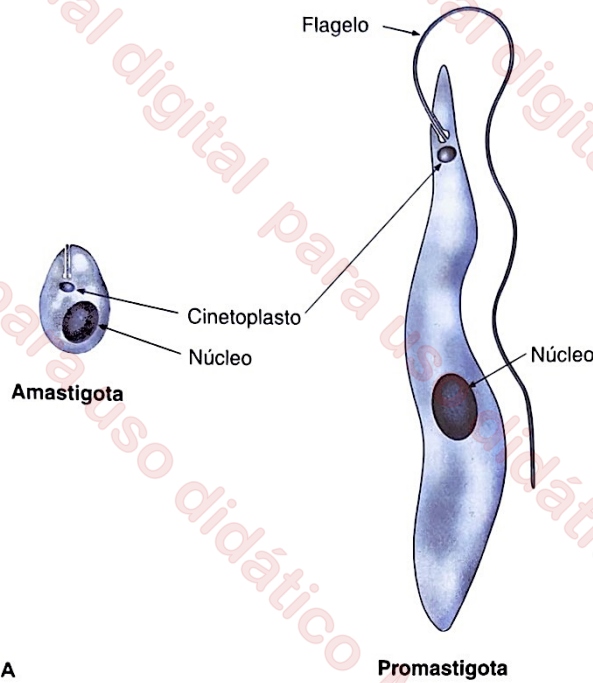


FIGURA 7.3 Estágios evolutivos das leishmânias. A. Representação esquemática dos estágios evolutivos das leishmânias. B. Promastigotas de *Leishmania amazonensis* em meio de cultura (coloração: Giemsa). C. Amastigotas de *L. braziliensis* em corte histológico de pele (coloração: hematoxilina-eosina). D. Amastigotas de *L. infantum chagasi* em amostra de biopsia de medula óssea (coloração: hematoxilina-eosina). As setas em C e D indicam amastigotas no interior de macrófagos. Fotografias de Marcelo Urbano Ferreira.

na maioria das células eucariotas, como o retículo endoplasmático, o complexo de Golgi e os lisossomos, além do núcleo. Entretanto, diferentemente do que ocorre em outros organismos superiores, a cromatina não se condensa durante a divisão celular dos promastigotas, e os cromossomos não podem ser visualizados individualmente. Os protozoários do gênero *Leishmania* contêm ainda glicossomos, organelas essenciais que participam da regulação metabólica necessária à adaptação a ambientes tão diversos quanto os encontrados nos diferentes hospedeiros (Michels et al., 2006).

A infecção do flebotomíneo fêmea ocorre mediante a ingestão de sangue contaminado com células infectadas de um hospedeiro mamífero. Os parasitos ingeridos junto com o sangue diferenciam-se rapidamente em formas promastigotas chamadas de procíclicas, que sobrevivem no meio extracelular e passam a multiplicar-se por divisão binária (ver Figura 7.2). Esses protozoários nutrem-se do conteúdo intestinal do inseto,

utilizando principalmente a glicose e a prolina como fontes de carbono. À medida que os nutrientes no tubo digestivo do inseto escasseiam, ocorre uma diferenciação dos promastigotas procíclicos em promastigotas metacíclicos. Essa diferenciação traduz-se em mudanças morfológicas, como o aumento da extensão do flagelo e o encurtamento do corpo do parasito, bem como em alterações fisiológicas. O promastigota metacíclico é incapaz de multiplicar-se, e deve ser inoculado no mamífero para dar continuidade ao ciclo.

Os diversos estágios de diferenciação do parasito ocupam habitats também distintos no interior do inseto (Kamhawi, 2006). Após o repasto sanguíneo, e imediatamente após sua diferenciação em promastigotas, os parasitos são encontrados no interior da membrana peritrófica, misturados ao conteúdo do repasto sanguíneo. Para escapar das enzimas digestivas que serão secretadas para o interior do saco alimentar, os promastigotas escapam de seu interior e, mediante interações

entre moléculas presentes no lado externo de sua membrana plasmática (lipofosfoglicano, LPG) e lectinas no epitélio digestivo do inseto vetor, instalam-se na região do intestino anterior (subgênero *Leishmania*) ou no intestino posterior (subgênero *Viannia*). Aderidos ao epitélio digestivo, os promastigotas multiplicam-se extensamente. Alguns dias depois, com a redução do conteúdo de nutrientes no intestino, ocorre a diferenciação para promastigotas metacíclicos. As moléculas presentes na superfície do parasito são alteradas, desaparecendo a capacidade de adesão específica a lectinas do epitélio (Naderer, 2004; Kamhawi, 2006).

Os promastigotas metacíclicos, agora livres no interior do tubo digestório, fazem então uma migração retrógrada até as porções anteriores do esôfago do inseto, onde passam a secretar fosfolípidios. Formam, assim, uma substância de consistência gelatinosa capaz de obstruir parcialmente a luz da válvula estomodeal, por onde deve ser conduzido o sangue ingerido no próximo repasto sanguíneo. Por isso, o flebotômico infectado precisa picar inúmeras vezes até atingir a saciedade, regurgitando saliva e porções desse material gelatinoso com parasitos a cada picada. Os promastigotas metacíclicos são injetados no mamífero, pela picada do inseto, misturados à saliva e ao gel secretado anteriormente, ambos representando fatores importantes para o estabelecimento da infecção (Bates, 2007).

Outra característica importante do promastigota metacíclico é sua capacidade de resistir à lise por moléculas do sistema complemento, uma das primeiras linhas de defesa do hospedeiro mamífero. Entretanto, o complemento é ativado pelo parasito e por fatores inflamatórios presentes na saliva do inseto. Os produtos da cascata do complemento depositam-se na superfície do promastigota, opsonizando-o. Desse modo, o promastigota metacíclico torna-se mais “apetitoso” para a fagocitose por células especializadas. Dois tipos celulares principais no mamífero são responsáveis por essa fagocitose precoce: leucócitos polimorfonucleares e macrófagos.

Um grande número de neutrófilos é atraído precocemente para o sítio de inoculação dos parasitos, graças à lesão mecânica causada pela picada e pela atividade inflamatória de componentes da saliva do inseto. Os neutrófilos são capazes de fagocitar os promastigotas inoculados e desempenham um papel importante na defesa inata. Promastigotas fagocitados por neutrófilos são, em grande parte, destruídos no interior do fagossomo. Normalmente os neutrófilos têm um período curto de vida, que termina pela entrada em apoptose. Os neutrófilos apoptóticos são então fagocitados por macrófagos. Entretanto, parte dos neutrófilos que fagocitam promastigotas tem sua fisiologia alterada, tornando-se incapazes de destruir os parasitos. Os promastigotas de *Leishmania* que conseguem instalar-se em compartimentos não líticos do neutrófilo retardam o programa de apoptose e prolongam a vida da célula hospedeira, tornando possível que os parasitos permaneçam viáveis durante as primeiras horas da infecção enquanto os macrófagos e as células dendríticas são progressivamente atraídos para o local. Em um segundo momento, os neutrófilos parasitados transferem os parasitos para o interior de macrófagos, por serem fagocitados por eles ou por liberarem os parasitos nas vizinhanças de macrófagos que chegam ao sítio da lesão (Peters; Sacks, 2009).

Os macrófagos são, de fato, a célula hospedeira por excelência para as leishmânias. Componentes do complemento depositados na superfície do promastigota favorecem a fagocitose

pelo macrófago por meio do receptor CR3, que, quando ativado, induz fagocitose sem estimular a produção de intermediários reativos de oxigênio e nitrogênio. O parasito fagocitado permanece envolto pela membrana que forma o fagossomo ou vacúolo parasitóforo. Como consequência da formação do vacúolo, são a seguir recrutados lisossomos que se fundem ao fagossomo, despejando em seu interior seu conteúdo ácido e rico em enzimas proteolíticas. Os promastigotas sobrevivem no interior do vacúolo fagolisossômico, neutralizando seu conteúdo proteolítico graças à liberação, a partir da membrana plasmática, de proteases de superfície (glicoproteína de 63 kDa, gp63) que serão responsáveis pela inativação das enzimas lisossômicas. O pH ácido remanescente e o aumento drástico de temperatura ao passar do inseto (temperatura ambiente) para o mamífero (em torno de 37°C) funcionam como sinais desencadeadores de uma nova transformação do parasito: eles passam agora ao estágio *amastigota* (ver Figura 7.3). Os amastigotas, diferentemente dos promastigotas, são formas de vida intracelulares. Perfeitamente adaptados ao ambiente do vacúolo fagolisossômico, multiplicam-se por divisão binária, até que a quantidade de amastigotas intracelulares seja suficiente para romper a célula hospedeira. Nesse momento, os amastigotas liberados no meio extracelular podem ser fagocitados por outros macrófagos ou podem migrar, por via hematogênica, a outros órgãos do hospedeiro mamífero.

Promastigotas e amastigotas de *Leishmania* utilizam um mecanismo que mimetiza a sua própria apoptose para escapar das defesas do hospedeiro. Desse modo, parte da população de promastigotas metacíclicos no inseto vetor, assim como amastigotas recuperados de lesão, tem a propriedade de expor moléculas semelhantes à fosfatidilserina (PS) em sua superfície. A PS é habitualmente encontrada na face interna de membranas plasmáticas. Quando exposta na superfície celular, é considerada típica de células em apoptose. Assim, parasitos que expõem moléculas semelhantes à PS em sua superfície induzem fagocitose mediante receptores de PS no macrófago. A fagocitose mediada por esses receptores modula a resposta da célula hospedeira, induzindo citocinas anti-inflamatórias e inibindo a resposta oxidativa, como ocorre quando o macrófago fagocita uma célula em apoptose (Balanco et al., 2001; Wanderley et al., 2006; van Zandbergen et al., 2006).

Especialmente no caso dos mamíferos silvestres com papel de reservatório, são encontrados macrófagos infectados na derme em regiões de pele sã. Para se alimentarem, os insetos flebotômicos perfuram várias vezes a pele no local da picada, de maneira que se forme um pequeno “lago” de sangue. Essas picadas repetidas causam lesão suficiente na derme para que o sangue ingerido contenha também parasitos liberados de macrófagos presentes na região. Os amastigotas ingeridos com o sangue, ao experimentarem a mudança de pH e de temperatura, novamente assumem a forma promastigota no intestino do inseto.

Embora os principais reservatórios de *L. (V.) braziliensis* e *L. (L.) amazonensis* sejam roedores silvestres, esses parasitos também infectam animais domésticos e peridomésticos, como cães, gatos e equinos. Os reservatórios silvestres de *L. (L.) infantum chagasi* são principalmente raposas e roedores, enquanto os cães são considerados um importante reservatório no peridomicílio e em regiões urbanas. Diferentes espécies de *Leishmania* foram encontrados em muitas ordens de mamíferos desde morcegos até xenartra. Porém, existem poucos estudos avaliando sua importância no ciclo enzoótico.

Aspectos clínicos

Na maior parte dos casos, é difícil reconhecer o local de inoculação do parasito após a picada do flebotomíneo. Em algumas circunstâncias, uma pápula ou mesmo uma pequena pústula pode se desenvolver, com duração de alguns dias. Após um período de incubação de duração incerta (provavelmente em torno de 2 a 8 semanas), podem surgir sinais e sintomas de leishmaniose. No entanto, muitas infecções por *Leishmania* são completamente assintomáticas. Estudos epidemiológicos em áreas endêmicas de leishmaniose visceral mostram que somente cerca de 5 a 6% das pessoas infectadas desenvolvem sintomas. Na leishmaniose tegumentar, não se dispõe de dados precisos quanto à proporção de indivíduos infectados que desenvolvem a doença.

Leishmaniose tegumentar

A forma tegumentar de leishmaniose tem apresentação clínica variável, de acordo com fatores específicos do parasito e de fatores genéticos do hospedeiro. A forma mais comum é chamada de *leishmaniose tegumentar localizada ou cutânea*. Na região próxima à inoculação dos parasitos desenvolve-se uma lesão cutânea, inicialmente papular, que pode ou não ser seguida de lesões satélites ou secundárias. A maior parte das lesões cutâneas na leishmaniose assume a forma ulcerada. Considera-se uma lesão típica aquela com bordas elevadas e infiltradas, com fundo granular, indolor e não pruriginosa, lembrando o topo de uma “cratera de vulcão” (Figura 7.4). Infecções bacterianas secundárias podem ocorrer, levando à formação de uma secreção purulenta, com edema, rubor e calor locais. Podem ocorrer também outras apresentações, como lesões polipoides, nodulares, verrucoides e impetigoides. A progressão da doença acarreta aumento de diâmetro da úlcera, às vezes com extensões laterais e formação de lesões satélites. Pode haver linfadenopatia regional. Em infecções por *L. (V.) guyanensis*, é possível observar linfangite nodular. Após uma evolução de muitos meses, a(s) úlcera(s) pode(m) cicatrizar espontaneamente, com resolução da lesão cutânea. Mesmo após a

cicatrização, espontânea ou em resposta a quimioterapia específica, parasitos viáveis são frequentemente encontrados no tecido subcutâneo e em linfonodos.

Uma segunda forma de doença tegumentar, geralmente associada a infecções por *L. (L.) amazonensis*, é a *leishmaniose cutâneo difusa*. Nesse caso, as lesões demoram muito para ulcerar e evoluem inicialmente como nódulos. Essa forma é rara e extremamente grave. Os pacientes desenvolvem múltiplas lesões em todo o tegumento, e eventualmente têm perda de tecido nas extremidades, devido às lesões crônicas que determinam necrose tecidual.

A terceira forma clássica de leishmaniose tegumentar é a *cutaneomucosa*. Acredita-se que, no Brasil, esta apresentação clínica esteja associada preferencialmente a infecções por *L. (V.) braziliensis*. As lesões em mucosas oral e nasal podem surgir muitos anos após o aparecimento das lesões cutâneas, mas também podem precedê-las ou mesmo surgir sem manifestações cutâneas. Essas lesões mucosas são encontradas mais frequentemente no palato, nos lábios, nas cavidades nasais, na faringe e na laringe. São lesões infiltradas, indolores, que eventualmente ulceram, levando à perda tecidual e a perfurações, com desabamento do septo nasal, formação de fístulas oronasais etc.

Infecções por *L. (V.) braziliensis* podem ainda estar relacionadas a uma forma denominada *leishmaniose disseminada*, em que dezenas a centenas de lesões polimórficas ocorrem em diversas áreas do corpo, frequentemente com acometimento de mucosas.

Leishmaniose visceral

A leishmaniose visceral tem início insidioso, com febre alta, porém irregular. O quadro febril é acompanhado de astenia, mal-estar geral e perda de peso. No exame físico são observadas hepatomegalia e esplenomegalia, que podem alcançar grandes dimensões; nesses casos, sinais de desnutrição são também evidentes. Em áreas de transmissão mais recente tem-se observado evolução mais rápida para as formas graves e/ou complicadas de leishmaniose. Os exames laboratoriais inespecíficos mostram anemia, leucopenia e plaquetopenia intensas, assim como hipergamaglobulinemia. A leishmaniose visceral pode ser uma das doenças oportunistas associadas à síndrome



FIGURA 7.4 Leishmaniose tegumentar em paciente da Amazônia brasileira. Aspecto de lesões ulceradas, antes (A e B) e 6 meses depois do tratamento com antimonial pentavalente (C). Fotografias de Nathália Ferreira Lima, Instituto de Ciências Biomédicas da USP.

de 60% das linhagens desse parasito isoladas de pacientes são resistentes aos antimoniais, o tratamento com miltefosina foi bem-sucedido inicialmente. Entretanto, em poucos anos surgiram sinais de que a eficácia do tratamento poderia se reduzir rapidamente devido à seleção de parasitas resistentes. A tendência atual para o tratamento de leishmaniose é a utilização de combinações de fármacos, na tentativa de melhorar a eficácia e reduzir as chances de falha terapêutica por seleção de resistência. Estudos clínicos com algumas combinações de fármacos estão em andamento, especialmente na Índia e África.

A eficácia dos medicamentos disponíveis no Brasil foi recentemente avaliada em pacientes com leishmaniose visceral (Romero et al., 2017), e mostrou que o tratamento com antimoniato de meglumina resulta em cerca de 77,5% de sucesso em 6 meses. Esse estudo levou à proposta de substituição do uso de antimoniais por anfotericina lipossomal, com melhores taxas de cura aos 6 meses.

Em relação ao tratamento de leishmaniose tegumentar, a situação é ainda mais complexa. Mesmo os quadros de leishmaniose tegumentar localizada tem tido taxas de cura após o tratamento com antimoniato de meglumina que podem ser de apenas cerca de 50% em diferentes áreas no Brasil (Machado et al., 2010; Cruschiak-Talhari et al., 2011).

Vetores das leishmanioses

Os insetos vetores das leishmanioses pertencem ao filo Arthropoda, classe Insecta, ordem Diptera, subordem Nematocera, família Psychodidae e subfamília Phlebotominae.

Por pertencerem a essa subfamília, são conhecidos por flebotomíneos, ou flebótomos, e só estes apresentam espécies com importância em medicina humana e/ou veterinária. Os psicodídeos, nos quais se inserem os flebotomíneos, não são, na sua quase totalidade, vetores de agentes patogênicos. Assim, em português, quando nos referimos aos vetores das leishmanioses, dever-se-á utilizar o termo flebotomíneo ou flebótomo.

Os flebotomíneos, ou flebótomos, são denominados como “*phlebotomine sand flies*”, ou “*sand flies/sandflies*” pelos anglo-saxônicos e por “*phlébotomes*” pelos francófonos (Dépaquit; Léger, 2017). Em português, não se deve traduzir a palavra “*sand fly*” para mosca da areia, uma vez que causa confusão sugerindo que eles são encontrados exclusivamente em regiões desérticas ou litorâneas, o que não corresponde à sua real distribuição. Nas Américas, os flebotomíneos estão predominantemente associados a matas e florestas. Além disso, eles não são muscoides. Também não se deve dizer que são “mosquitos”, pois, em termos taxonômicos, bioecológicos e veterinários, nada têm a ver com os culicídeos. Contudo, em diferentes países há termos regionais específicos para os flebotomíneos que podem ser úteis em estudos de vigilância e controle. Por exemplo, no Brasil os flebotomíneos têm nomes regionais como mosquito-palha, birigui, cangalhinha, tatuquirã, asa-dura, asa-branca ou anjinho.

Os flebótomos encontram-se no Velho e no Novo Mundo, em regiões tropicais, subtropicais e temperadas, ainda que distribuídos de maneira focal. No que diz respeito à taxonomia, verificam-se vários gêneros e subgêneros; a divisão destes ainda não é consensual. Nas Américas, a maioria dos pesquisadores segue as divisões genéricas e subgenéricas propostas por Eunice Galati em suas várias revisões taxonômicas (Galati, 2018).

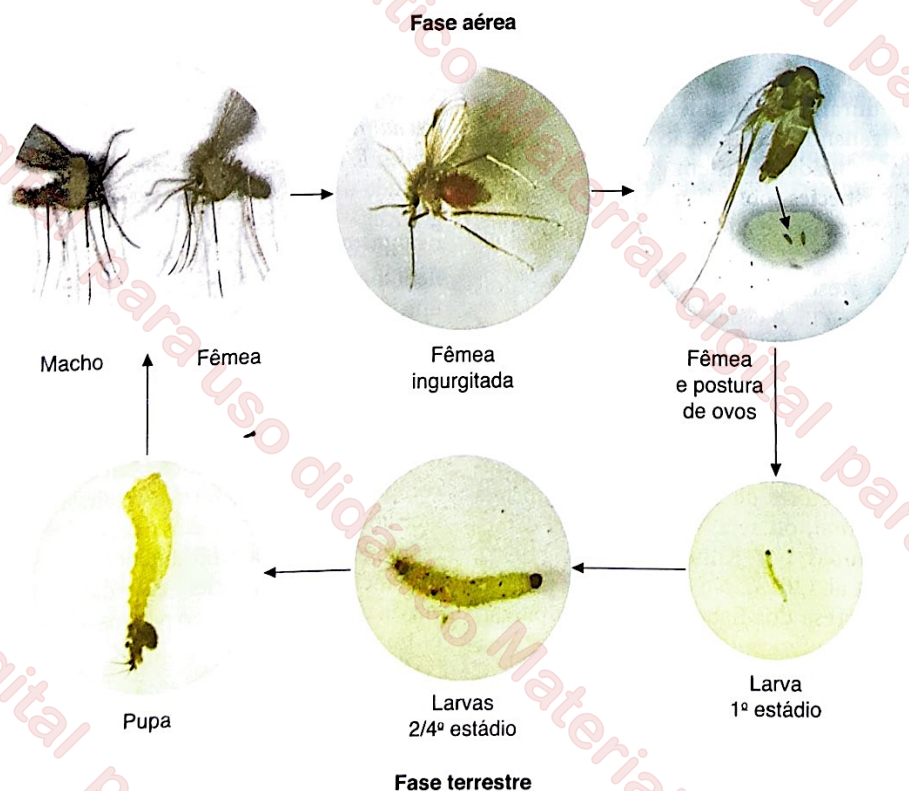


FIGURA 7.5 Ciclo de vida de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae): fases aérea e terrestre. Fotografias de M.O. Afonso, S. Branco, A. Pereira e C. Maia.

Os flebotomíneos adultos alimentam-se de sucos açucarados, quer de plantas, quer de afídeos. Só as fêmeas são hematófagas e telmofágicas, isto é, durante a refeição sanguínea fazem pequenos movimentos de vaivém com suas peças bucais, dando origem a micro-hematomas na derme do vertebrado. O sangue coletado nesse local não coagula devido às enzimas que a saliva de tais insetos contém. A atividade dos adultos é principalmente crepuscular e/ou noturna. As larvas são saprófagas e fitófagas (Figura 7.5), e as pupas não se alimentam. O ciclo de vida, desde a postura até a eclosão dos adultos, corresponde a um período de cerca de 37 a 76 dias a uma temperatura de 28°C e alimentação adequada. Quando a temperatura ambiente é de cerca de 18°C, o ciclo de vida é ainda mais longo: 116 a 165 dias. Abaixo de 12°C, os flebotomíneos cessam a sua atividade (Tesh; Guzman, 1996).

Nas regiões temperadas, como é o caso de Portugal, Espanha e outros países da bacia mediterrânica, as larvas do quarto estado entram em diapausa no outono/inverno, quando as temperaturas baixam para níveis não compatíveis com a atividade dos adultos. Na primavera seguinte, as larvas passam a pupas que vão dar origem aos adultos. Frente às alterações climáticas e ambientais, é possível prever que o aumento médio da temperatura anual provocará a eclosão mais precoce dos adultos, ao passo que as larvas entrarão em diapausa mais tarde. Assim, o período de atividade flebotomínica e o número de gerações anuais aumentariam, o que provavelmente levará a aumento no risco de transmissão vetorial de leishmanioses (Afonso; Alves-Pires, 2008; Trájer et al., 2013). Não existem dados confiáveis sobre a longevidade dos adultos na natureza, mas sabe-se que a taxa de sobrevivência é reduzida após cada oviposição (Dye et al., 1987). As chances de uma fêmea sobreviver são maiores na primeira oviposição, diminuem na segunda e se reduzem ainda mais na terceira oviposição. Em uma população de *Phlebotomus (Larrousius) ariasi* no sul da França, a taxa de sobrevivência foi 1,54 ciclos ovarianos. Como a alimentação sanguínea está relacionada à oviposição, isso significa que as chances de uma fêmea infectada durante seu primeiro repasto sanguíneo sobreviver para transmitir a infecção em sua segunda alimentação são bem reduzidas. Existem evidências laboratoriais de que algumas espécies sobrevivem à oviposição com mais sucesso, o que teoricamente aumentaria sua importância vetorial.

Em Portugal, até a presente data, são conhecidos dois gêneros, três subgêneros e cinco espécies transmissoras, nomeadamente *P. (L.) perniciosus* Newstead, 1911; *P. (L.) ariasi* Tonnoir, 1921; *Phlebotomus (Paraphlebotomus) sergenti* Parrot, 1917; *P. (P.) papatasi* (Scopoli, 1786) e *Sergentomyia (Sergentomyia) minuta* (Rondani, 1843) (Afonso; Alves-Pires, 2008). Destas espécies, apenas *P. perniciosus* e *P. ariasi* são comprovadamente vetores de *L. infantum*, de norte a sul de Portugal Continental, ou seja, apresentam as características vetoriais definidas por Killick-Kendrick (1990), Ready (2013) e Maroli et al. (2013). No entanto, nos últimos anos, e para alguma surpresa dos flebotomologistas/parasitologistas, fêmeas de *S. minuta* capturadas no Algarve e no Alentejo, Portugal, foram identificadas por técnicas moleculares como infectadas por *L. major* e *L. infantum*, respetivamente (Campino et al., 2013; Pereira et al., 2017). Entretanto, são necessários estudos adicionais para que se possa afirmar que esses flebotomíneos podem ser infectantes e, portanto, vetores verdadeiros dessas espécies de *Leishmania* (Maia; Dépaquit, 2016).

A complexidade de transmissão nas Américas é revelada pelo grande número de vetores em que diferentes espécies de *Leishmania* foram encontradas. Em revisões recentes (Rangel et al., 2018a, 2018b), leishmânias associadas a leishmaniose tegumentar no Brasil foram encontradas em 31 espécies de flebotomíneos, enquanto o parasito associado a leishmaniose visceral foi identificado em 16 flebotomíneos brasileiros. Porém, muitas dessas infecções só foram assinaladas por métodos moleculares. Em alguns casos, a mesma espécie de flebotomíneo foi encontrada infectada com até três espécies de leishmânia em diferentes localizações geográficas, sugerindo que um mesmo vetor pode estar envolvido com a transmissão de mais de uma espécie de *Leishmania*, dependendo da situação ecológica. O grande desafio é a comprovação vetorial de uma dada espécie. Sem dúvida, *Lutzomyia longipalpis* é o principal vetor de leishmaniose visceral (*L. infantum*) no Brasil e encontra-se distribuída em 24 dos 27 estados brasileiros. Até agora esse flebotomíneo não foi encontrado nos estados do Acre, Amazonas e Santa Catarina. Considerando-se as atuais tendências de mudanças ambientais, especialmente em relação ao desmatamento, é possivelmente que seja apenas uma questão de tempo até que a espécie seja encontrada nos estados de Acre e Amazonas. Por outro lado, sua ausência não é garantia da ausência de leishmaniose visceral. Já foram identificados casos de doença em cachorros e no homem em Santa Catarina e são fortes as evidências de que outras espécies de flebotomíneos, como *Pintomyia fischeri* e *Nyssomyia neivai* sejam responsáveis pela transmissão. Situações semelhantes ocorrem em outros estados em áreas onde *L. longipalpis* está ausente e espécies como *Migonemyia migonei* são responsáveis pela transmissão de leishmaniose visceral. No que diz respeito à transmissão vetorial de leishmaniose tegumentar (cutânea), as principais espécies flebotomínicas no Brasil são: *Bichromomyia flaviscutellata* (*L. amazonensis*), *Migonemyia migonei* (*L. braziliensis*), *Nyssomyia intermedia* (*L. braziliensis*), *Ny. neivai* (*L. braziliensis*), *Ny. umbratilis* (*L. guyanensis*), *Ny. whitmani* (*L. braziliensis*; *L. shawi*), *Psychodopygus ayrozai* (*L. naiffi*) *Ps. complexus* (*L. braziliensis*), *Ps. davisii* (*L. braziliensis*; *L. naiffi*) e *Ps. wellcomei* (*L. braziliensis*). A importância de cada um desses vetores varia de acordo com a região geográfica.

Em relação aos principais aspetos morfológicos, todos os flebotomíneos adultos apresentam as asas com características únicas, representadas na Figura 7.6. Os adultos ou imagos, quer machos, quer fêmeas, apresentam dimensões reduzidas – 2 a 3 mm de comprimento –, têm cerdas distribuídas pelo corpo e dimorfismo sexual acentuado. Quando estão em repouso, suas asas lanceoladas ficam abertas sobre o tórax em forma de “V”. São holometabólicos, isto é, têm metamorfoses completas. Além das formas adultas, são encontrados os estágios imaturos que incluem ovos, quatro estados larvais e pupas (ver Figura 7.5). Contrariamente à maioria dos dípteros de importância médica, o ciclo de vida dos flebotomíneos decorre em duas fases: meio aéreo para os adultos e meio terrestre para os imaturos.

O monitoramento de áreas endêmicas e o conhecimento acerca dos vetores de leishmânias torna-se ainda mais importante no momento atual em que se intensificam as alterações climáticas e ambientais no planeta. Tais alterações potencialmente contribuem para o aumento da densidade vetorial e a sua expansão territorial, representando maiores desafios ao controle dessa doença negligenciada.

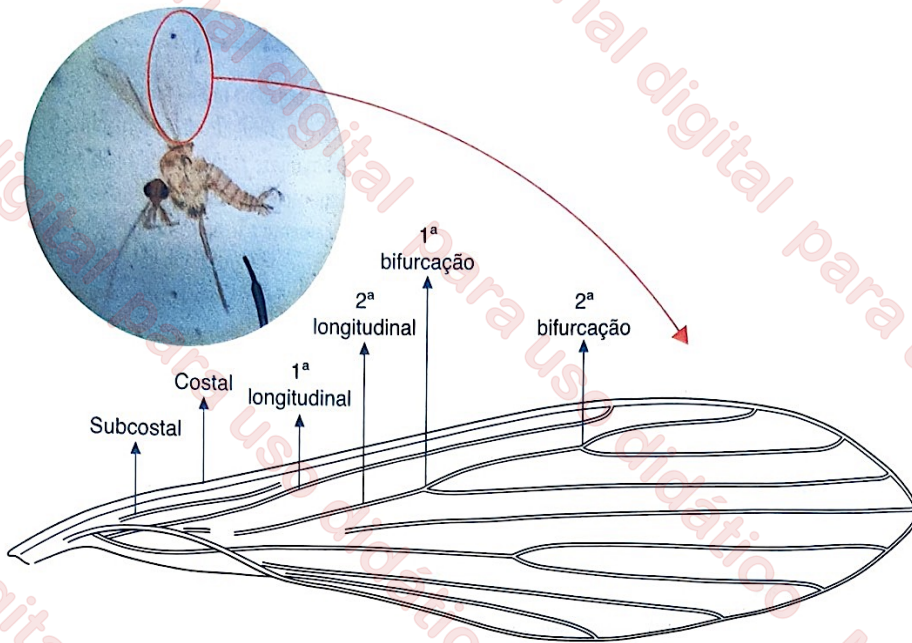


FIGURA 7.6 Esquema da asa de um flebotomíneo: asa lanceolada com nervuras bem individualizadas, e com a segunda nervura longitudinal bifurcada duas vezes. Adaptada de Andrade Filho et al., 2004. Fotografia de M.O. Afonso.

Prevenção e controle das leishmanioses

As propostas de controle de transmissão de leishmaniose devem levar em consideração as diferentes situações epidemiológicas em que ocorrem as infecções. Para a leishmaniose tegumentar clássica de ciclo silvestre, no interior ou nas proximidades de regiões de mata, a profilaxia da infecção só é possível por meio de métodos de proteção individual, como o uso de repelentes, janelas teladas e mosquiteiros impregnados com inseticidas. Nesse contexto, o controle do reservatório é impraticável, já que esse é constituído de animais silvestres.

No caso da leishmaniose visceral, os focos clássicos de transmissão estão em ambientes rurais, identificando-se o cão como um reservatório importante na cadeia de transmissão. Assim, recomendam-se em geral o tratamento dos doentes e o sacrifício dos cães infectados, já que o tratamento desses animais com substâncias utilizadas no tratamento humano é ineficaz e está proibido. Entretanto, há evidências recentes de que o sacrifício de cães tenha pouco impacto na redução da transmissão, mas as campanhas de controle realizadas em condições distantes das ideais não possibilitam avaliar adequadamente essa medida. Em anos mais recentes, com a instalação de grandes surtos epidêmicos em regiões completamente urbanizadas, o controle do vetor passou a ter maior importância, assim como as medidas individuais de prevenção e tratamento

precoce dos doentes. A aplicação de inseticidas de efeito residual em habitações reduz a transmissão, especialmente em áreas urbanas. Outra medida aplicável ao controle é a utilização de mosquiteiros impregnados com inseticidas. Devido ao pequeno tamanho do vetor, a malha dos mosquiteiros deve ser muito fina para impedir sua passagem. Além disso, passou a ser recomendada a utilização de coleiras impregnadas com repelentes em cães domésticos, com a intenção de evitar a infecção do animal.

Não existem vacinas contra leishmaniose para uso humano. Uma estratégia vacinal que consiste em escarificação da pele de crianças com fragmentos de lesão de pessoas doentes era usada na Rússia, no início do século XX. Essa técnica induzia a formação de uma úlcera em locais cobertos que geralmente evoluía para cura espontânea e evitava o aparecimento de lesões em áreas expostas, mais tarde. A técnica era geralmente bem-sucedida, mas se aplicava em regiões onde o agente etiológico é a *L. (L.) major*, espécie que geralmente causa doença autolimitada. Raramente, entretanto, as úlceras não cicatrizavam espontaneamente, e essa técnica foi abandonada.

Embora várias estratégias estejam em estudo com o objetivo de obter vacinas contra as leishmanioses humanas, nenhuma delas está disponível para uso. Uma vacina utilizada por alguns anos no Brasil consistia em uma preparação de promastigotas mortas, mas não foi possível demonstrar sua eficácia (Noazin et al., 2009). Uma vacina para uso em cães está disponível no Brasil, mas com poucos resultados que suportem seu uso e eficácia (Grimaldi et al., 2017).

PARASITOLOGIA EM FOCO

Quimioterapia das leishmanioses

A terapêutica das leishmanioses conta com um arsenal medicamentoso bastante restrito. O tratamento da doença com antimoniais trivalentes foi inicialmente descrito no Brasil, por Gaspar Vianna, em 1912. Esses compostos foram

logo abandonados por serem extremamente tóxicos e, na década de 1940, foram substituídos pelos antimoniais pentavalentes, que continuam sendo os medicamentos de primeira escolha no tratamento de todas as formas de leishmaniose no Brasil. O mecanismo de ação dos antimoniais ainda não está

totalmente esclarecido. Eles são ativos contra os amastigotas intracelulares, mas sua atividade contra promastigotas é muito baixa. Isso pode ser explicado em parte pela conversão intramacrofágica dos antimoniais pentavalentes em antimoniais trivalentes, mais ativos porém também mais tóxicos. A atividade dos antimoniais contra amastigotas no ser humano parece estar relacionada com a ativação do sistema imune, que auxiliaria na ativação dos mecanismos microbicidas dos macrófagos. Essa ativação parece ocorrer no homem, mas não em outros hospedeiros animais, como o cão. Por isso, o tratamento de animais com antimoniais está proibido no Brasil. Há evidências sugestivas de que os antimoniais também sejam responsáveis pela inibição da atividade de enzimas glicolíticas de *Leishmania* e de enzimas responsáveis pela remoção de radicais livres, como a tripanotiona redutase.

Nas décadas de 1990 e 2000, tornou-se óbvia a seleção de parasitos resistentes aos antimoniais na Índia, especialmente no estado de Bihar, altamente endêmico para leishmaniose visceral. Mais de 60% dos parasitos isolados de pacientes nessa região são agora insensíveis aos antimoniais, fazendo com que esses medicamentos não possam mais ser utilizados (Sundar, 2001). Nessa região, a leishmaniose visceral é causada por *L. (L.) donovani*, e a doença é considerada uma antroponose; não são conhecidos reservatórios animais. Isso explica a seleção de parasitos resistentes, já que a pressão de seleção do medicamento é mais sustentada. Entretanto, a seleção de parasitos resistentes pode, teoricamente, ocorrer em outras áreas geográficas e representa motivo de preocupação. O risco de seleção de parasitos resistentes é outro fator que reforça a proibição do uso de antimoniais no tratamento de cães, já que esses não se curam e têm sua carga parasitária somente reduzida pela administração prolongada desses medicamentos.

Os medicamentos de segunda escolha no tratamento de leishmaniose incluem anfotericina B e pentamidina. A anfotericina B também é de administração parenteral, e seus efeitos tóxicos cumulativos são intensos. A utilização de anfotericina encapsulada em lipossomos ou associada a lipídios reduz a dose necessária para o tratamento de leishmaniose visceral, mas com custos normalmente proibitivos para o tratamento em larga escala em zonas endêmicas. A pentamidina é mais tóxica e menos eficaz, reservada apenas aos casos de falha terapêutica dos dois fármacos mencionados anteriormente. A pentamidina também é usada em regiões com alta incidência de infecções por *L. (V.) guyanensis*, por oferecer melhores resultados terapêuticos do que os antimoniais nesses casos.

Alternativas terapêuticas propostas mais recentemente incluem a miltefosina (um análogo de fosfocolina) e a aminosidina (paromomicina). A miltefosina foi inicialmente descrita como substância antineoplásica, mas não foi aprovada nos testes clínicos iniciais em pacientes com câncer. Administrada por via oral, mostrou-se segura e eficaz no tratamento de leishmaniose visceral na Índia. Entretanto, não pode ser administrada durante a gravidez por seus efeitos teratogênicos (Sundar, 2001). Estudos clínicos iniciais realizados na Colômbia e na Guatemala indicam que a eficácia da miltefosina não é homogênea no tratamento de infecções por diferentes espécies de *Leishmania*: obteve-se boa resposta terapêutica no tratamento de infecções por *L. (V.) panamensis*, enquanto casos de leishmaniose cutânea causada por *L. (V.) braziliensis* na Guatemala tiveram resposta inferior à observada com o tratamento por antimoniais (Soto et al., 2004). Diferenças importantes de sensibilidade de espécies de *Leishmania* à miltefosina foram observadas também *in vitro*; espécies presentes nas Américas do Sul e Central, como *L. (V.) braziliensis*, *L. (V.) guyanensis* e *L. (L.) mexicana*, são menos suscetíveis do que cepas de

L. (L.) donovani isoladas na Índia (Yardley et al., 2006). Assim, a eficácia da miltefosina para o tratamento de leishmaniose visceral nas Américas e na África e de leishmaniose cutânea ainda não está estabelecida. A miltefosina está sendo aplicada ao tratamento de cães no Brasil com a justificativa de que é um medicamento não aprovado para uso humano. Essa medida coloca em risco o uso futuro de miltefosina em esquemas de combinação de fármacos em humanos, já que pode precipitar a seleção de parasitos resistentes à miltefosina.

A atividade tópica do aminoglicosídeo paromomicina no tratamento de leishmaniose cutânea foi relatada inicialmente em 1985 (El-On et al., 1985), mas estudos clínicos obtiveram resultados contraditórios (Iraji; Sadeghinia, 2005; El-On et al., 2007; Mussi et al., 2007).

Muitos outros compostos ou moléculas vêm sendo testados em laboratório ou em modelos experimentais buscando-se novas alternativas para o tratamento de leishmanioses, uma necessidade premente no contexto atual de expansão geográfica, aumento de incidência e ameaça de seleção de parasitos resistentes.

Mais recentemente a tendência global na busca por alternativas no tratamento de leishmaniose é a de usar terapia combinada, com associação de pelo menos dois fármacos, se possível com modos de ação diferentes. Essa estratégia é amplamente utilizada para o tratamento de tuberculose, AIDS e malária, por exemplo. Testes clínicos estão em andamento para as associações de anfotericina lipossomal com antimoniais pentavalentes ou miltefosina ou paromomicina (Abongomera et al., 2018; Kimutai et al., 2017; Rahman et al., 2017).

Referências bibliográficas

- Abongomera C, Diro E, de Lima Pereira A et al. The initial effectiveness of liposomal amphotericin B (AmBisome) and miltefosine combination for treatment of visceral leishmaniasis in HIV co-infected patients in Ethiopia: A retrospective cohort study. *PLoS Negl Trop Dis.* 2018;12:e0006527.
- El-On J, Bazarsky E, Sneir R. *Leishmania major*: *in vitro* and *in vivo* antileishmanial activity of paromomycin ointment (Leshcutan) combined with the immunomodulator Imiquimod. *Exp Parasitol.* 2007;116:156-62.
- El-On J, Weinrauch L, Livshin R et al. Topical treatment of recurrent cutaneous leishmaniasis with ointment containing paromomycin and methylbenzethonium chloride. *Br Med J. (Clin Res Ed).* 1985;291:704-5.
- Iraji F, Sadeghinia A. Efficacy of paromomycin ointment in the treatment of cutaneous leishmaniasis: results of a double-blind, randomized trial in Isfahan, Iran. *Ann Trop Med Parasitol.* 2005;99:3-9.
- Kimutai R, Musa AM, Njoroge S et al. Safety and effectiveness of sodium stibogluconate and paromomycin combination for the treatment of visceral leishmaniasis in Eastern Africa: results from a pharmacovigilance programme. *Clin Drug Investig.* 2017;37:259-72.
- Mussi SV, Fernandes AP, Ferreira LA. Comparative study of the efficacy of formulations containing fluconazole or paromomycin for topical treatment of infections by *Leishmania (Leishmania) major* and *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. *Parasitol Res.* 2007;100:1221-6.
- Rahman R, Goyal V, Haque R et al. Safety and efficacy of short course combination regimens with AmBisome, miltefosine and paromomycin for the treatment of visceral leishmaniasis (VL) in Bangladesh. *PLoS Negl Trop Dis.* 2017;11: e0005635.
- Sundar S. Drug resistance in Indian visceral leishmaniasis. *Trop Med Int Health.* 2001;6: 849-54.
- Yardley V, Ortuno N, Llanos-Cuentas A et al. American tegumentary leishmaniasis: is antimonial treatment outcome related to parasite drug susceptibility? *J Infect Dis.* 2006;194:1168-75.

Referências bibliográficas

- Adl SM, Simpson AG, Farmer MA et al. The new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists. *J Euk Microbiol.* 2005;52:399-451.
- Afonso MO, Alves-Pires C. Bioecologia dos vetores. In: Santos-Gomes G, Fonseca IM (Eds.). *Leishmaniose canina*. Lisboa: Chaves-Ferreira Publicações, 2008. p. 27-40.
- Alvar J, Aparicio P, Aseffa A et al. The relationship between leishmaniasis and AIDS: the second 10 years. *Clin Microbiol Rev.* 2008;21:334-59.
- Andrade Filho JD, Galati EA, de Andrade WA, Falcão AL. Description of *Micropygomyia (Silvamyia) echinatopharinx* sp. nov. (Diptera, Psychodidae) a new species of phlebotomine sand fly from the State of Tocantins, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2004;99:609-15.
- Balanco JM, Moreira ME, Bonomo A et al. Apoptotic mimicry by an obligate intracellular parasite downregulates macrophage microbicidal activity. *Curr Biol.* 2001;11:1870-3.
- Bezerra JM, de Araújo VE, Barbosa DS et al. Burden of leishmaniasis in Brazil and federated units, 1990-2016: Findings from Global Burden of Disease Study 2016. *PLoS Negl Trop Dis.* 2018;12:e0006697.
- Bates PA. Transmission of *Leishmania* metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies. *Int J Parasitol.* 2007;37:1097-106.
- Brasil. Ministério da Saúde. Casos confirmados de leishmaniose visceral. Brasil. 2020a. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/def-tohtm.exe?sinannet/cnv/leishvbr.def>. Acesso em 14 jul 2020.
- Brasil. Ministério da Saúde. Casos confirmados de leishmaniose tegumentar. Brasil. 2020b. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/ltabr.def>. Acesso em 14 jul 2020.
- Campino L, Cortes S, Dionísio L et al. The first detection of *Leishmania major* in naturally infected *Sergentomyia minuta* in Portugal. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2013;108:516-8.
- Chrusciak-Talhari A, Dietze R, Chrusciak-Talhari C et al. Randomized controlled clinical trial to access efficacy and safety of miltefosine in the treatment of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania (Viannia) guyanensis* in Manaus, Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 2011;84:255-60.
- de Assis TS, Braga AS, Pedras MJ et al. Multi-centric prospective evaluation of rk39 rapid test and direct agglutination test for the diagnosis of visceral leishmaniasis in Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2011;105:81-5.
- Dépaquit J, Léger N. Les flébotomes (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). In: Duvallat G, Fontenille D, Robert V. *Entomologie médicale et vétérinaire*. Marseille, Versailles: IRD Éditions, 2017. p. 295-320.
- Dye C, Guy MW, Elkins DB, Wilkes TJ, Killick-Kendrick R. The life expectancy of phlebotomine sandflies: first field estimates from southern France. *Med Vet Entomol.* 1987;1:417-25.
- Espinosa OA, Serrano MG, Camargo EP et al. An appraisal of the taxonomy and nomenclature of trypanosomatids presently classified as *Leishmania* and *Endotrypanum*. *Parasitology.* 2018;145:430-42.
- Galati EAB. Phlebotominae (Diptera, Psychodidae): classification, morphology and terminology of adults and identification. In: Rangel EF, Shaw JJ (Eds.). *Brazilian Sand Flies*. Basel: Springer International Publishing, 2018. p. 9-212.
- Grimaldi G Jr., Teva A, Dos-Santos CB et al. Field trial of efficacy of the Leish-tec® vaccine against canine leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* in an endemic area with high transmission rates. *PLoS One.* 2017;12:e0185438.
- Harhay MO, Olliaro PL, Costa DL, Costa CHN. Urban parasitology: visceral leishmaniasis in Brazil. *Trends Parasitol.* 2011;27:403-9.
- Kamhawi S. Phlebotomine sand flies and *Leishmania* parasites: friends or foes? *Trends Parasitol.* 2006;22:439-45.
- Killick-Kendrick R. Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review. *Med Vet Entomol* 1990;4:1-24.
- Lainson R, Shaw JJ. Evolution, classification and geographical distribution. In: Peters EW, Killick-Kendrick R. *The Leishmaniasis in Biology and Medicine*. London: Academic Press, 1987. p.1-20.
- Machado PR, Ampuero J, Guimaraes LH et al. Miltefosine in the treatment of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania braziliensis* in Brazil: a randomized and controlled trial. *PLoS Negl Trop Dis.* 2010;4:e912.
- Maia C, Dépaquit J. Can *Sergentomyia* (Diptera, Psychodidae) play a role in the transmission of mammal-infecting *Leishmania*? *Parasite.* 2016;23:55-69.
- Maroli M, Feliciangeli MD, Bichaud L et al. Phlebotomine sand flies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concerning. *Med Vet Entomol.* 2013;27:123-47.
- Michels PA, Bringaud F, Herman M, Hannaert V. Metabolic functions of glycosomes in trypanosomatids. *Biochim Biophys Acta.* 2006;1763:1463-77.
- Naderer T, Vince JE, McConville MJ. Surface determinants of *Leishmania* parasites and their role in infectivity in the mammalian host. *Curr Mol Med.* 2004;4:649-65.
- Noazin S, Khamesipour A, Moulton LH et al. Efficacy of killed whole-parasite vaccines in the prevention of leishmaniasis: a meta-analysis. *Vaccine.* 2009;27:4747-53.
- Pereira S, Pita-Pereira D, Araújo-Pereira T et al. First molecular detection of *Leishmania infantum* in *Sergentomyia minuta* (Diptera, Psychodidae) in Alentejo, southern Portugal. *Acta Trop.* 2017;174:45-8.
- Peters NC, Sacks DL. The impact of vector-mediated neutrophil recruitment on cutaneous leishmaniasis. *Cell Microbiol.* 2009;11:1290-6.
- Rangel EF, Lainson R, Carvalho BM et al. Sand fly vectors of American cutaneous leishmaniasis in Brazil. In: Rangel EF, Shaw JJ (Eds.). *Brazilian Sand Flies*. Basel: Springer International Publishing, 2018a. p. 341-80.
- Rangel EF, Afonso MM, Shaw J. Eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis with particular reference to Brazil. In: Rangel EF, Shaw JJ (Eds.). *Brazilian Sand Flies*. Basel: Springer International Publishing, 2018b. p. 381-416.
- Ready PD. Biology of phlebotomine sand flies as vectors of diseases agents. *Annu Rev Entomol.* 2013;58:227-50.
- Romero GA, Costa DL, Costa CH et al. Efficacy and safety of available treatments for visceral leishmaniasis in Brazil: A multicenter, randomized, open label trial. *PLoS Negl Trop Dis.* 2017;11:e0005706.
- Tesh RB, Guzman H. Sand flies and the agents they transmit. In: Beaty BJ, Marquardt WC. *The Biology of Disease Vectors*. University Press of Colorado, 1996. p. 117-27.
- Trájer AJ, Bede-Fazékas Á, Hufnagel L et al. The effect of climate change on the potential distribution of the European *Phlebotomus* species. *App Ecol Environ Res.* 2013;11:189-208.
- van Zandbergen G, Bollinger A, Wenzel A et al. *Leishmania* disease development depends on the presence of apoptotic promastigotes in the virulent inoculum. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006;103:13837-42.
- Wanderley JL, Moreira ME, Benjamin A et al. Mimicry of apoptotic cells by exposing phosphatidylserine participates in the establishment of amastigotes of *Leishmania (L.) amazonensis* in mammalian hosts. *J Immunol.* 2006;176:1834-9.

Leitura sugerida

- Burza S, Croft SL, Boelaert M. Leishmaniasis. *Lancet.* 2018;392:951-70.
- Podinovskaia M, Descoteaux A. *Leishmania* and the macrophage: a multifaceted interaction. *Future Microbiol.* 2015;10:111-29.
- Romero GA, Boelaert M. Control of visceral leishmaniasis in Latin America – a systematic review. *PLoS Negl Trop Dis* 2010;4:e584.