



DÉBORA KAROLLA DE FREITAS OLIVEIRA

**LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA NO MUNICÍPIO DE
RIBEIRÃO VERMELHO, MINAS GERAIS: SITUAÇÃO ATUAL**

**LAVRAS - MG
2022**

DÉBORA KAROLLA DE FREITAS OLIVEIRA

**LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA NO MUNICÍPIO DE RIBEIRÃO
VERMELHO, MINAS GERAIS: SITUAÇÃO ATUAL**

Monografia de Conclusão de Curso apresentada à
Universidade Federal de Lavras, como parte
das exigências do Curso de Graduação de Ciências
Biológicas para a obtenção do
título de Bacharel.

Profa. Dra. Joziana Muniz de Paiva Barçante
Orientadora
MSc. Ingrid Marciano Alvarenga
Coorientadora

**LAVRAS - MG
2022**

FICHA CATALOGRÁFICA

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

Oliveira, Débora Karolla de Freitas.

Leishmaniose Visceral Canina no município de Ribeirão
Vermelho, Minas Gerais: situação atual / Débora Karolla de Freitas
Oliveira. - 2022.

53 p.

Orientador(a): Joziana Muniz de Paiva Barçante.

Coorientador(a): Ingrid Marciano Alvarenga.

Monografia (graduação) - Universidade Federal de Lavras,
2022.

Bibliografia.

1. Soroepidemiologia. 2. Imunocromatografia. 3. Diagnóstico
Sorológico. I. Barçante, Joziana Muniz de Paiva. II. Alvarenga,
Ingrid Marciano. III. Título.]

DÉBORA KAROLLA DE FREITAS OLIVEIRA

**LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA NO MUNICÍPIO DE RIBEIRÃO
VERMELHO, MINAS GERAIS: SITUAÇÃO ATUAL**

**CANINE VISCERAL LEISHMANIASIS IN THE COUNTY OF RIBEIRÃO
VERMELHO, MINAS GERAIS: CURRENT SITUATION**

Monografia de Conclusão de Curso apresentada à
Universidade Federal de Lavras, como parte
das exigências do Curso de Graduação de Ciências
Biológicas para a obtenção do
título de Bacharel.

Aprovada em 22 de abril de 2022.
Profa. Dra. Joziana Muniz de Paiva Barçante UFLA
Msc. Ingrid Marciano Alvarenga UFLA
Pedro Henryque de Castro UFLA
Msc. Isabela Resende Ávila UFMG

Profa. Dra. Joziana Muniz de Paiva Barçante
Orientadora
MSc. Ingrid Marciano Alvarenga
Coorientadora

**LAVRAS - MG
2022**

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus, pois até aqui ele me ajudou e me capacitou. Gostaria de agradecer aos meus pais que me apoiaram durante todo o meu curso, em especial minha mãe. Sou muito grata por incentivarem meus estudos e estarem sempre ao meu lado.

Agradeço a meu noivo, Victor, que sempre foi meu porto seguro durante toda minha graduação e sempre acreditou no meu sucesso como Bióloga. Obrigada por nunca me deixar desistir nos momentos difíceis. Por anos me levando e me buscando da UFLA, onde eu passava a maior parte do meu tempo. Te amo.

Agradeço a UFLA, onde me encontrei no curso de Ciências Biológicas. Na universidade, encontrei professores e docentes excepcionais e aprendi muito sobre a vida. Sou muito grata por todo ensino e infraestrutura oferecido pela Instituição.

Aos amigos que me acompanharam desde o início da graduação, em especial o Pedro Henrique e Luis Fernando que foram meus companheiros e apoio durante esses anos.

À minha orientadora Joziana Muniz de Paiva Barçante, que é uma grande fonte de inspiração, admiração e aprendizado. Ela me acolheu com todo carinho e me deu todo suporte necessário para a realização deste trabalho.

À minha Coorientadora Msc. Ingrid Marciano Alvarenga, que foi essencial na minha jornada, me ajudou em tudo e com muito carinho me deu toda ajuda nesse trabalho. Foi uma honra trabalhar ao lado dela, nossa convivência resultou em uma amizade que espero levar por muitos anos.

Agradeço também ao Pedro Henrique de Castro, que me deu todo apoio durante esse trabalho e além de se tornar um grande amigo e conselheiro nesse momento final do curso.

Ao Núcleo de Estudos em Parasitologia, que me fez me apaixonar pela área e fui sempre muito bem acolhida por todos. Sou grata pelos ensinamentos que levarei ao longo de toda minha carreira acadêmica.

A Vigilância Sanitária de Ribeirão Vermelho, em especial o Marcelo que se prontificou a fazer uma parceria com nosso grupo, e também ao NEP e NUPEB da UFLA, que tornaram esse trabalho possível.

Aos membros da minha banca, a Prof^a Dra. Joziana Muniz de Paiva Barçante, Msc. Ingrid Alvarenga, Pedro Henrique de Castro e Msc. Isabela Resende Ávila, por participarem desse momento comigo. Sou muito grata pela contribuição e por somarem com o presente trabalho.

RESUMO

A Leishmaniose Visceral (LV) faz parte de um complexo de doenças infecto-parasitárias causadas por protozoários do gênero *Leishmania*. A transmissão se dá através da picada dos flebotomíneos, sendo *Lutzomyia longipalpis* o principal vetor de *Leishmania infantum*, patógeno causador da LV no Brasil. Os hospedeiros são vertebrados silvestres ou domésticos, com destaque os cães (*Canis lupus familiaris*), que no cenário urbano, são considerados reservatórios do parasito e possuem um importante papel na disseminação da doença. A LV é uma zoonose de relevância no contexto mundial, devido ao seu importante espectro clínico de caráter crônico e sistêmico, alta mortalidade e letalidade. Além disso, é considerada negligenciada, sendo que, no Brasil, é endêmica e se encontra em franca expansão devido à adaptação dos vetores aos grandes centros urbanos. Nesse contexto, o diagnóstico sorológico é uma estratégia fundamental para o controle da doença, dessa forma, o objetivo principal deste trabalho foi investigar a ocorrência de animais com sorologia positiva para LV no município de Ribeirão Vermelho, Minas Gerais. O presente estudo teve caráter descritivo, quantitativo, de base populacional, no qual foram utilizados dados cedidos através da parceria do Núcleo de Estudos em Parasitologia (NEP) e do Núcleo de Pesquisas Biomédicas (NUPEB) da Universidade Federal de Lavras com a Vigilância Sanitária, que por sua vez, realizaram duas campanhas de testagem utilizando o TR DPP® Leishmaniose Visceral Canina-Bio-Manguinhos e o TR r-KDDR-plus, capazes de detectar a presença de anticorpos anti-*Leishmania* em uma amostra de sangue retirada através de uma punção de ponta de orelha. Foram testados 169 cães, no qual a prevalência de LV foi de 8,3% (14) para o TR DPP® e de 1,8% (3) para o TR rKDDR-plus. Dentre os casos, 71,4% (10) dos cães apresentavam-se assintomáticos, enquanto 28,5% (4) apresentavam sinais clínicos compatíveis com a LV. Além disso, os casos identificados estão amplamente distribuídos pelo município, com destaque para o bairro Engenho da Serra com 42,85% (6). Foi possível observar a presença de limitações e heterogeneidade na triagem de cães infectados, ressaltando a importância da padronização da metodologia utilizada em inquéritos sorológicos e o cenário epidemiológico do município. Portanto, o diagnóstico precoce e a investigação de casos são fundamentais para o controle da doença, os quais devem ser aliados a outras medidas de controle, a fim de combater a LV.

Palavras-chave: Soroepidemiologia. Imunocromatografia. Diagnóstico Sorológico.

ABSTRACT

Visceral Leishmaniasis (VL) is part of a complex of infectious-parasitic diseases caused by protozoa of the genus *Leishmania*. Transmission occurs through the bite of sandflies, with *Lutzomyia longipalpis* being the main vector of *Leishmania infantum*, the pathogen that causes VL in Brazil. The hosts are wild or domestic vertebrates, especially dogs (*Canis lupus familiaris*), which in the urban setting are considered reservoirs of the parasite and play an important role in the spread of the disease. VL is a zoonosis of relevance in the world context, due to its important clinical spectrum of chronic and systemic character, high mortality and lethality. In addition, it is considered neglected, and in Brazil it is endemic and is expanding due to the adaptation of vectors in large urban centers. In this context, the serological diagnosis is a fundamental strategy for the control of the disease, in this way, the aim of this work is to investigate the occurrence of animals with positive serology for VL in the county of Ribeirão Vermelho, Minas Gerais. The present study was descriptive, quantitative, population-based, in which data was provided through a partnership with the Núcleo de Parasitologia (NEP) and Núcleo de Pesquisas Biomédicas (NUPEB) of the Universidade Federal de Lavras with Sanitary Surveillance, who carried out two testing campaigns using the TR DPP® Canine Visceral Leishmaniasis-Bio-Manguinhos and the TR r-KDDR-plus, capable of detecting the presence of anti-*Leishmania* antibodies in a blood sample taken through an ear tip puncture. 169 dogs were tested, in which the prevalence of VL was 8.3% (14) for the TR DPP® and 1.8% (3) for the TR rKDDR-plus. Among the cases, 71.4% (10) of the dogs were asymptomatic, while 28.5% (4) had clinical signs compatible with VL. In addition, the cases identified are widely distributed throughout the county, with emphasis on the Engenho da Serra neighborhood with 42.85% (6). It was possible the presence of limitations and heterogeneity in the screening of infected dogs, emphasizing the importance of standardizing the methodology used in serological surveys and the epidemiological scenario of the county. Therefore, early diagnosis and the investigation of cases of CVL are essential for the control of the disease, which must be combined with others control measures in order to combat it.

Keywords: Seroepidemiology. Immunochromatographic. Serological Diagnosis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Status mundial da endemicidade da Leishmaniose Visceral em 2020.	15
Figura 2 - Estratificação de risco da Leishmaniose Visceral por município de infecção no Brasil, de 2017 a 2019.....	16
Figura 3 - Morfologia das espécies de <i>Leishmania</i>	17
Figura 4 - Espécimes de <i>Lutzomyia longipalpis</i>	19
Figura 5 - Locais e residências com a presença de flebotomíneos em Ribeirão Vermelho/MG em 2019.	20
Figura 6 - Ciclo biológico de <i>Leishmania</i> em um vetor competente, ilustrando a aparência dependente do tempo de formas morfológicas distintas de promastigotas dentro do intestino médio do flebotomíneo (adaptado).	22
Figura 7 - Ciclo de vida da <i>Leishmania</i>	23
Figura 8 – Sinais Clínicos da Leishmaniose Tegumentar em cães.....	24
Figura 9 - Manifestação clínicas em cães soropositivos para LV no inquérito sorológico realizado pela Vigilância Sanitária de Ribeirão Vermelho/MG em março de 2022.	26
Figura 10 - Mapa do município de Ribeirão Vermelho, Minas Gerais.	31
Figura 11 – Teste de DPP® LVC - Bio-Manguinhos utilizado durante inquérito sorológico realizado pela Vigilância Sanitária de Ribeirão Vermelho/MG em março de 2022.	33
Figura 12 - Teste Rápido rKDDR-plus utilizado durante inquérito sorológico realizado pela Vigilância Sanitária do município de Ribeirão Vermelho/MG em março de 2022.	34
Figura 13 - Coleta realizada em cães durante inquérito sorológico realizado pela Vigilância Sanitária de Ribeirão Vermelho/MG em março de 2022.	34
Figura 14 - Sinais clínicos observados nos cães soropositivos para Leishmaniose Visceral, durante inquérito sorológico realizado pela Vigilância Sanitária do município de Ribeirão Vermelho/MG em março de 2022.	38
Gráfico 1 – Cães sintomáticos (28,5%) e assintomáticos (71,4%) dentre a população total de soropositivos no inquérito realizado pela Vigilância Sanitária de Ribeirão Vermelho/MG em março de 2022.....	38
Figura 15 - Distribuição geográfica e densidade de cães soropositivos para LV por bairros no município de Ribeirão Vermelho/MG no inquérito sorológico realizado pela Vigilância Sanitária em março de 2022.	41
Figura 16 – Estratificação baseada na média de casos registrados de Leishmaniose Visceral em 2019 no estado de Minas Gerais.....	43

Figura 17 – Localização do Município de Ribeirão Vermelho/MG e cidades vizinhas onde há casos de LVC registrados.44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Sexo e idade da população de cães domésticos submetidos aos testes sorológicos durante inquérito realizado pela Vigilância Sanitária do município de Ribeirão Vermelho/MG em março de 2022.....	35
Tabela 2 - Total de testes realizados, número de cães soronegativos e soropositivos para o TR DPP® LVC-Bio-Manguinhos e rKDDR-plus durante inquérito sorológico realizado pela Vigilância Sanitária de Ribeirão Vermelho/MG em março de 2022.....	36
Tabela 3 - Inquérito Sorológico de LVC com relação a quantidade de cães machos, fêmeas, positivos e prevalência dos mesmos em cada bairro participante das campanhas realizadas no município de Ribeirão Vermelho/MG em março de 2022.	41

LISTA DE SIGLAS

CDC - Center of Disease Control and Prevention

DPP - *Dual Path Plataform* (Plataforma de caminho duplo)

ELISA - Ensaio Imunoenzimático

KDDR - *Kinesin Degenerated Derived Repeat* (Repetição Degenerada Derivada de Kinesina)

LT - Leishmaniose Tegumentar

LTA - Leishmaniose Tegumentar Americana

LV - Leishmaniose Visceral

LVA - Leishmaniose Visceral Americana

LVC - Leishmaniose Visceral Canina

LVH – Leishmaniose Visceral Humana

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MG - Minas Gerais

MP - Matriz Peritrófica

MS - Ministério da Saúde

NEP - Núcleo de Estudos em Parasitologia

NUPEB - Núcleo de Pesquisa Biomédica

OMS - Organização Mundial da Saúde

PCR - Reação em cadeia de polimerase

PVCLV - Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral

RIFI - Reação de imunofluorescência indireta

TR - Teste rápido

UFLA - Universidade Federal de Lavras

WHO - World Health Organization

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1	Histórico	14
2.2	Epidemiologia	15
2.3	Agente Etiológico	17
2.4	Vetor	18
2.5	Ciclo Biológico de <i>Leishmania</i>	20
2.6	Leishmanioses	23
2.6.1	Leishmaniose Tegumentar Americana	24
2.6.2	Leishmaniose Visceral	24
2.7	Prevenção, controle e tratamento	26
2.8	Diagnóstico Canino.....	28
3	OBJETIVOS.....	29
3.1	Objetivo Geral	29
3.2	Objetivos Específicos.....	29
4	JUSTIFICATIVA	30
5	MATERIAIS E MÉTODOS	31
5.1	Área de Estudo.....	31
5.2	Definição da amostra.....	32
5.3	Campanha e inquérito soropidemiológico.....	32
5.4	Testes Sorológicos.....	32
5.5	Análise de dados	35
6	RESULTADO E DISCUSSÃO	35
6.1	Investigação de casos caninos	35
6.2	Sinais Clínicos	37
6.3	Georreferenciamento	39

6.4 Aspectos epidemiológicos.....	42
6.5 Ações de educação em saúde	45
7 CONCLUSÃO.....	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
APÊNDICE A – Panfleto informativo.....	52

1 INTRODUÇÃO

A Leishmaniose Visceral (LV) faz parte de um complexo de doenças infecto-parasitárias causadas por protozoários do gênero *Leishmania*, pertencentes à família Trypanosomatidae. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), a doença é uma zoonose de importância em um contexto mundial, uma vez que possui um espectro de manifestações clínicas de grande relevância epidemiológica. Além disso, está presente em 88 países, principalmente os tropicais e subtropicais, sendo o Brasil, China, Etiópia, Eritreia, Índia, Quênia, Somália, Sudão do Sul, Sudão e Iêmen responsáveis por 90% dos casos reportados em 2020 (OMS, 2022).

A transmissão é vetorial, através da picada de flebotomíneos, dípteros da família Psychodidae, subfamília Phlebotominae, sendo *Lutzomyia longipalpis* a principal espécie transmissora de *Leishmania infantum*, patógeno causador da LV no Brasil. Os flebotomíneos são conhecidos popularmente como mosquito-palha, asa dura, birigui, tatuíra e cangalhinha. As fêmeas são hematófagas se alimentam do sangue de vertebrados, infectando humanos e diversos animais selvagens e domésticos. Os cães (*Canis lupus familiaris*) são apontados como os principais reservatório do parasito, os quais servem de fonte de infecção para vetores e, portanto, são de grande importância para as estratégias de controle e epidemiologia da doença.

É uma doença crônica e sistêmica, cuja sintomatologia no cão é diversa, incluindo úlceras cutâneas, lesões oculares, sangramento nasal (epistaxe), unhas anormais (onicogrifose), hematuria, emagrecimento, anemia, atrofia muscular progressiva, lesões articulares e ósseas, caquexia, entre outros. Estudos indicam que as manifestações dependem de fatores inerentes ao hospedeiro, como o perfil da resposta imune, nutrição e idade do indivíduo, bem como a espécie do parasito. Nas Américas, *Leishmania infantum* é o principal agente etiológico da LV, forma mais severa da doença e potencialmente fatal ao homem.

Apesar da OMS considerar a LV uma das prioridades dentre as doenças tropicais, ela continua sendo negligenciada nos países endêmicos, onde atinge principalmente as populações de baixa renda, infectando mais de 12 milhões de pessoas no mundo. Nesse cenário, cabe ao setor público reconhecer a importância da doença como uma zoonose no contexto de saúde única, o qual se refere às esferas da saúde animal, humana e ambiental como fundamental para o controle efetivo da mesma.

No Brasil, o Ministério da Saúde (MS) criou o Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (PVCLV), com objetivo de implementar um conjunto de ações e estratégias de controle, baseadas em análises epidemiológicas que incluíam: o tratamento e

diagnóstico de casos humanos; eliminação dos insetos vetores; ações de educação em saúde e eutanásia de cães soropositivos.

Nesse contexto, os testes sorológicos realizados em cães são grandes aliados devido à sua praticidade, fácil manuseio e resultado rápido. No presente trabalho, foram utilizados os testes rápidos DPP® Leishmaniose Visceral Canina-Bio-Manguinhos, recomendado pelo MS em inquéritos populacionais, e o TR r-KDDR-plus, capazes de detectar a presença de anticorpos anti-*Leishmania* no sangue, plasma ou soro. Ademais, o diagnóstico clínico e o levantamento epidemiológico, constituem estratégias fundamentais para o controle eficiente da doença. Dessa forma, o objetivo desse trabalho é realizar uma investigação sorológica em cães de Ribeirão Vermelho, Minas Gerais, a fim de fazer uma investigação epidemiológica, bem como disseminar conhecimento em educação de saúde e nortear as medidas a serem tomadas pelo município.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Histórico

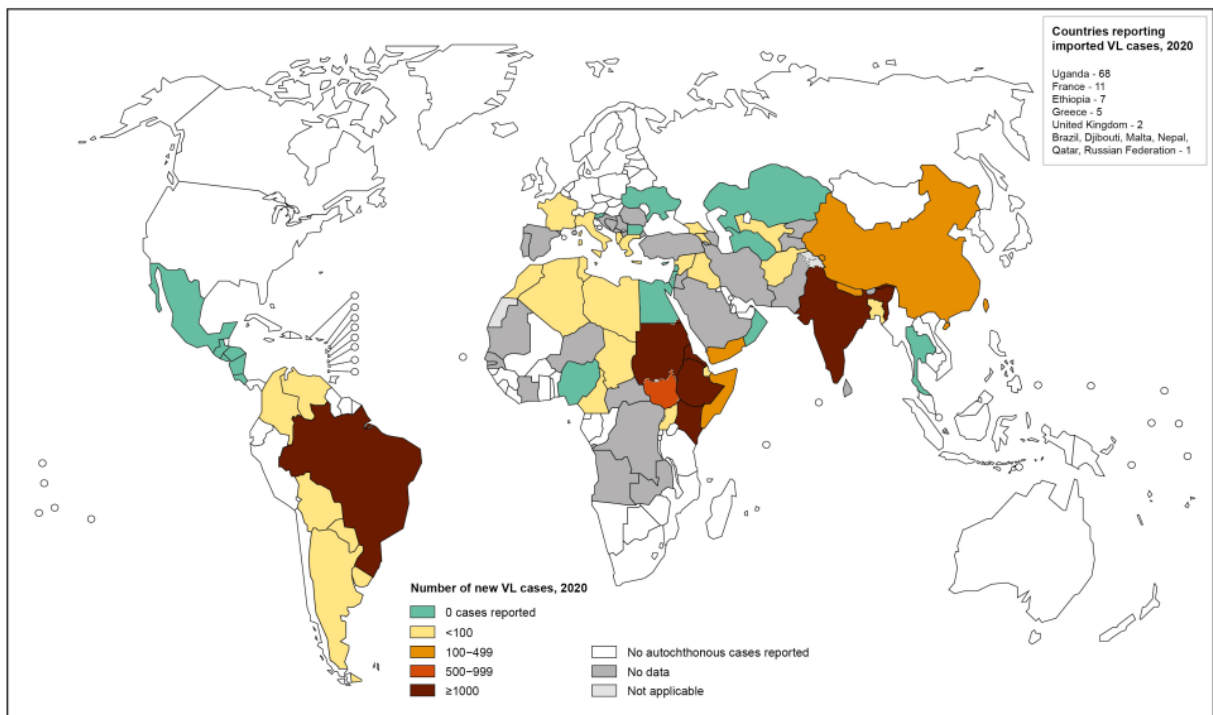
Em 1885, o professor escocês, David Douglas Cunningham observou “a presença de organismos peculiares no tecido de um espécime de Delhi fever” e descreveu pela primeira vez as formas amastigotas. Posteriormente, em 1900, o patologista William Boog Leishman identificou o protozoário, o qual mais tarde foi batizado em sua homenagem (WEYERS, 2016). No entanto, somente após os trabalhos de Leishman e Donovan em 1903, Ross propôs a denominação *Leishmania donovani* e *Leishmania infantum*, a qual foi descrita infectando humanos e cães em 1908 (DONOVAN, 1903; LEISHMAN, 1903; ROSS, 1903; NICOLLE; COMTE, 1908).

No Brasil, em 1934, Henrique Penna observou formas amastigotas em cortes histológicos de 41 pacientes que vieram ao óbito com suspeita de febre amarela. No entanto, apenas 20 anos depois, a doença ganhou a atenção das autoridades públicas quando foi registrado o primeiro surto em Sobral, no estado do Ceará, onde 100 pessoas morreram com LV (LAINSON; RANGEL, 2005). Devido ao constante avanço da urbanização, a doença deixa a região rural e abrange as regiões urbanas a partir da década de 1980, atingindo primeiramente a região Nordeste, e posteriormente as regiões Norte, Centro-oeste e Sudeste do país (GONTIJO; MELO, 2004; ZUBEN; DONALÍSIO, 2016).

2.2 Epidemiologia

As leishmanioses são amplamente distribuídas no mundo e atualmente a LV é endêmica em 83 países (FIGURA 1). Estima-se que cerca de 350 milhões de pessoas estão em regiões de transmissão, sendo que a doença no cão é associada ao alto risco de infecção humana (GONTIJO; MELO, 2004; GRIMALDI et al., 2017). Em 2020, os países Brasil, China, Etiópia, Eritreia, Índia, Quênia, Somália, Sudão do Sul, Sudão e Iêmen foram responsáveis por 90% dos casos reportados, número que gira em torno de 50 a 90 mil por ano. No entanto, tais números não refletem a real gravidade epidemiológica da doença, já que, apenas 25 a 45% dos casos são reportados a Organização Mundial da Saúde (FIGURA 1) (OMS, 2022).

Figura 1- Status mundial da endemicidade da Leishmaniose Visceral em 2020.



Legenda: Verde – países onde não há nenhum caso reportado; bege – menos de 100 casos; laranja – entre 100 e 499 casos; marrom – entre 500 e 999 casos; marrom escuro – mais de 1000 casos. Branco – não há casos autóctones reportados; cinza escuro – não há dados; cinza claro – não se aplica.

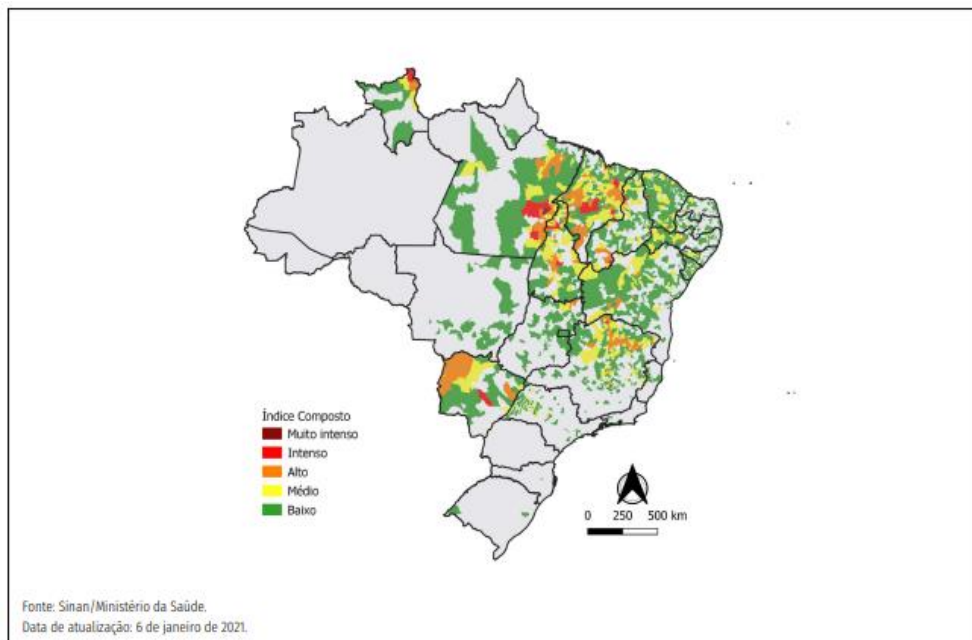
Fonte: World Health Organization, 2020.

A LV foi reportada nas Américas pela primeira vez em 1913 e no Brasil em 1936, onde é distribuída em 24 estados. O Nordeste do país foi a primeira região a despertar as autoridades públicas para a gravidade da doença, registrando a maioria dos casos (60,41% em 2015). Nas

últimas décadas, com a adaptação do vetor as regiões urbanas, a Leishmaniose canina passa a ter grande importância médico-veterinária, uma vez que, é reportada em grandes cidades brasileiras, como Belo Horizonte, São Paulo, Natal e Camaçari (BRODSKYN; KAMHAWI, 2018; BRAZIL, 2021; SILVA et al., 2021).

O estado de Minas Gerais é responsável por 22% dos casos e considerado de transmissão intensa de LV (FIGURA 2) (BRASIL, 2021). Desde 1994, há a ocorrência de LV em Belo Horizonte e em diversos outros municípios do estado, incluindo Lavras, onde estudos demonstram a prevalência de 6,9% de Leishmaniose Visceral Canina (LVC) de 2014 a 2018, e desde então, já foram registrados sete casos de LV Humana (LVH), dentre eles dois óbitos (NARCISIO, 2019). Já no município de Ribeirão Vermelho, os primeiros casos de LVC foram relatados em 2019, com a prevalência de 4,02% de cães com sorologia positiva, além da presença do vetor (ALVARENGA, 2019). Dessa forma, é importante ressaltar que, o cenário epidemiológico de Lavras pode ser um indicativo da ocorrência da doença em cidades vizinhas, incluindo Ribeirão Vermelho, pertencente a microrregião do município (BLANCO, 2019; NARCISIO, 2016; GONDIM, 2022).

Figura 2 - Estratificação de risco da Leishmaniose Visceral por município de infecção no Brasil, de 2017 a 2019.



Legenda: Risco de Infecção por LV: marrom – muito intenso; vermelho – intenso; laranja – alto; amarelo – médio; verde – baixo.

Fonte: BRASIL, 2021.

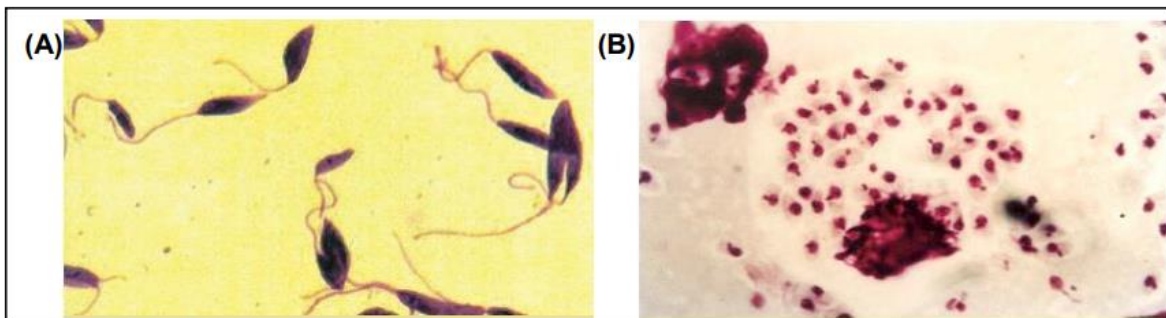
2.3 Agente Etiológico

As leishmanioses são causadas por protozoários, parasitos intracelulares obrigatórios das células do sistema fagocítico mononuclear (LIEZBETH et al., 2013). São pertencentes à família Trypanosomatidae, ao subgrupo Kinetoplastea do grupo Euglenozoa, supergrupo Excavata. De acordo com a classificação mais recente, o gênero *Leishmania* é dividido em quatro subgêneros: *Leishmania*, *Viannia*, *Sauroleishmania* e *Mundinia* (ESPINOSA et al., 2018).

Os hospedeiros naturais são vertebrados silvestres ou domésticos, com destaque as ordens Carnivora e Rodentia. Já os humanos, são considerados hospedeiros acidentais. No cenário urbano, os cães (*Canis lupus familiaris*) são apontados como principais reservatórios do protozoário, uma vez que, apresentam um intenso parasitismo cutâneo e possuem um importante papel na disseminação da doença (COURA-VITAL et al., 2014; DANTAS-TORRES, 2007). No entanto, animais selvagens também podem atuar como reservatórios, como *Speothos venaticus* (cachorro-vinagre), *Cerdocyon thous* (cachorro-do-mato), *Didelphis albiventris* (gambá-de-orelha-branca) e *Lycalopex vetulus* (raposa-do-mato) (FONSECA JÚNIOR et al., 2021).

Os parasitos podem ser encontrados nas formas flageladas ou imóveis, cujo flagelo se encontra internalizado. Os flebotomíneos, hospedeiros invertebrados, abrigam, no seu tubo digestivo, as formas flageladas de *Leishmania*: promastigotas procíclicas, nectomônada, leptomonas, haptomonas e metacíclicas. Já os hospedeiros vertebrados são infectados pelas promastigotas metacíclicas que, posteriormente, se transformam em amastigotas (formas imóveis) (FIGURA 3) (DOSTÁLOVÁ; VOLF, 2012; KAMHAWI, 2006).

Figura 3 - Morfologia das espécies de *Leishmania*.



Legenda: A – formas promastigotas encontradas no trato digestivo dos flebotomíneos; B – formas amastigotas encontradas no interior das células fagocitárias.

Fonte: Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral, 2014.

2.4 Vetor

Os flebotomíneos, também conhecidos como mosquito-palha, cangalhinha, asa-dura, tatuíra e birigui são pertencentes à família Psychodidae, subfamília Phlebotominae. Os gêneros *Phlebotomus* e *Lutzomyia* são de maior importância médica, uma vez que são os únicos capazes transmitir patógenos para os seres humanos (DOSTÁLOVÁ; VOLF, 2012; GALVIS-OVALLOS et al., 2017). *Phlebotomus* está presente na África, Europa e Ásia, e dividido em 12 subgêneros, enquanto *Lutzomyia*, predominante nas Américas, possui 25 subgêneros e subespécies (KILLICK-KENDRICK, 1999).

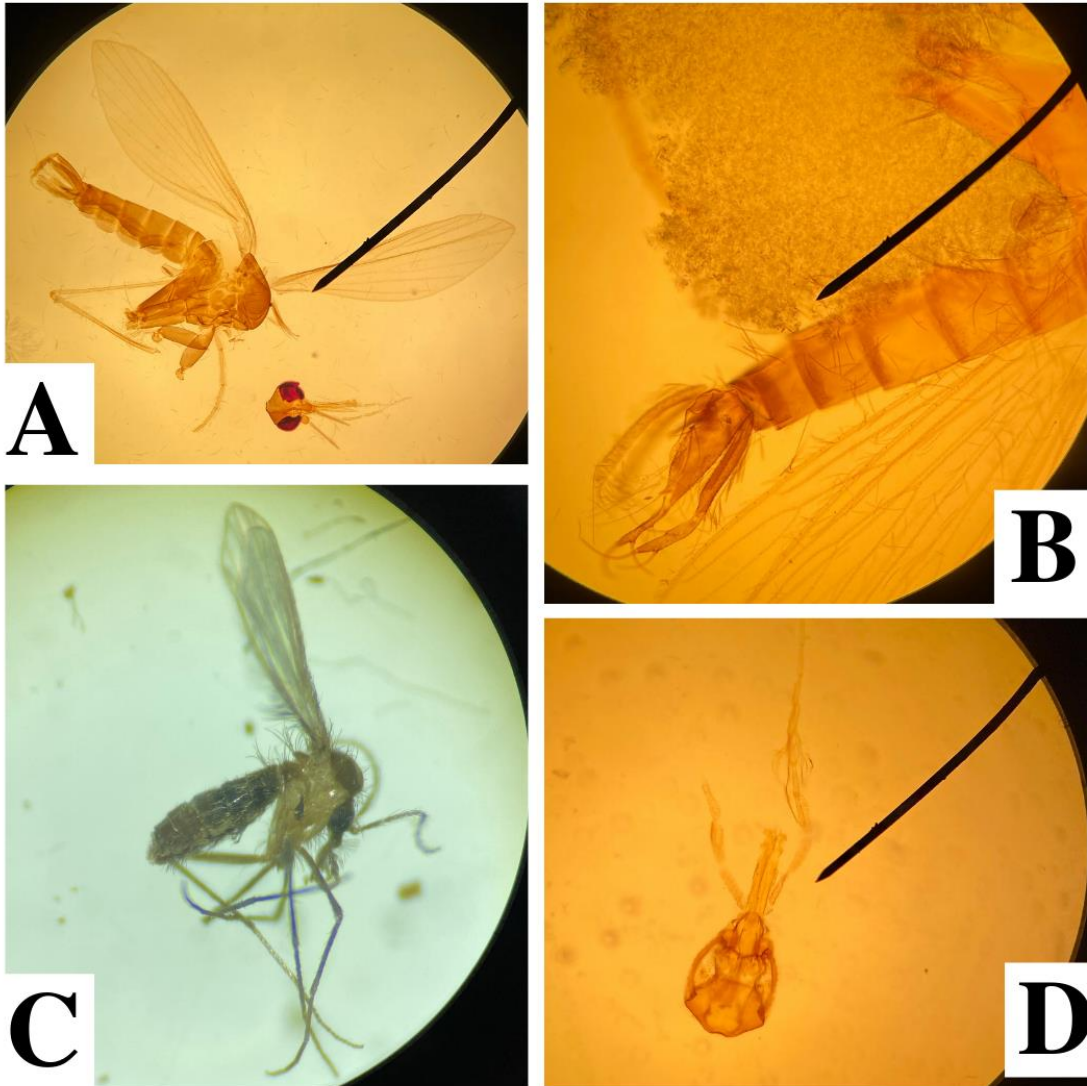
Lutzomyia longipalpis é encontrada desde o México até a Argentina, sendo o principal vetor de *L. infantum* nas Américas. Além de sua ampla distribuição geográfica, *Lu. longipalpis* ocorre em diversos habitats e condições ecológicas, fator que contribui para o sucesso da espécie, principalmente na área rural. No entanto, nos últimos 30 anos, estudos demonstram sua adaptação aos ambientes urbanos como consequência de desmatamentos, levando a um crescente aumento dos casos das leishmanioses (BRAZIL, 2013; LAINSON; RANGEL, 2005; LIEZBETH et al., 2013; SPIEGEL et al., 2016).

Os flebotomíneos são insetos pequenos, cujo tamanho corporal varia de 1.5 a 3 mm. *Lu. longipalpis* possui coloração “palha” e cerdas características da espécie (FIGURA 4). Além disso, apresentam alguns comportamentos marcantes que ajudam a identificá-los como: quando em repouso, as asas se posicionam em um ângulo acima do abdômen em forma de “V”; ao contrário dos mosquitos seu ataque é silencioso, no qual primeiramente voam ao redor do hospedeiro antes de picá-lo; e seu voo é em saltos alcançando em torno de 1,5 metros. O hábito dos flebotomíneos é predominantemente noturno, assim durante o dia eles costumam descansar em vegetações densas, arbustos, celeiros, casas, rochas, estábulos, dentre outros locais (FIGURA 5). São insetos holometabólicos, ou seja, apresentam metamorfoses completas, sendo elas: ovo, 4 estádios larvais, pupa, e por fim inseto adulto (DOSTÁLOVÁ; VOLF, 2012; KILLICK-KENDRICK, 1999).

Ambos machos e fêmeas se alimentam de soluções açucaradas, como néctar de flores e frutos. No entanto, para completar seu ciclo reprodutivo, as fêmeas hematófagas se alimentam do sangue de vertebrados, o que possibilita a nutrição e maturação dos ovos (KILLICK-KENDRICK, 1999; SPIEGEL et al., 2016). Os flebotomíneos se alimentam por telmofagia, ou seja, a fêmea insere suas peças bucais em forma de serra na pele, produzindo uma pequena ferida e causando um dano tecidual, formando uma poça de sangue. Posteriormente, na lesão,

haverá a liberação de macrófagos infectados, permitindo a ingestão dos mesmos pelo inseto (BATES, 2007).

Figura 4 - Espécimes de *Lutzomyia longipalpis*.



Legenda: A- macho; B - órgão reprodutor masculino; C – fêmea; D – ovários de *Lutzomyia Longipalpis*.

Fonte: Do autor, 2022.

Figura 5 - Locais e residências com a presença de flebotomíneos em Ribeirão Vermelho/MG em 2019.



Legenda: A a D - casas e proximidades com a presença de flebotomíneos em Ribeirão Vermelho/MG.
Fonte: Alvarenga, 2019.

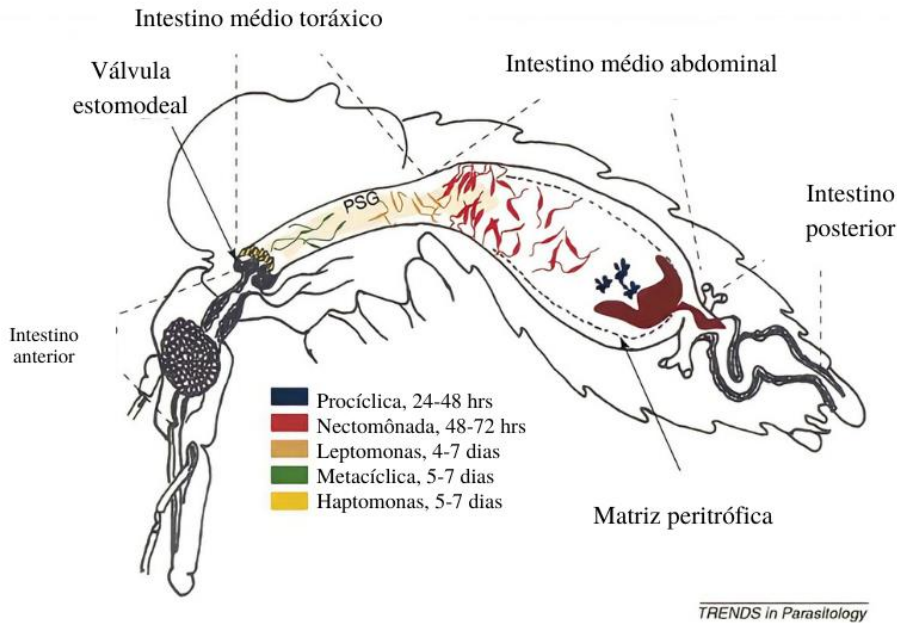
2.5 Ciclo Biológico de *Leishmania*

O ciclo biológico do protozoário é heteroxeno, ou seja, envolve dois hospedeiros, sendo um vertebrado e um invertebrado. No vetor, o ciclo do protozoário se inicia a partir do repasto sanguíneo, no qual o inseto ingere o sangue contendo macrófagos infectados. Em seguida, o parasito passa por diferenciações morfológicas e funcionais no trato digestivo do hospedeiro, enquanto migram do intestino médio posterior para a válvula estomodeal. O ciclo dura cerca de

6 a 9 dias no flebotomíneo, variando de acordo com a espécie do protozoário (KAMHAWI, 2006).

As amastigotas, forma ovalada, com flagelo internalizado e imóvel, são observadas no início do repasto sanguíneo e são separadas do intestino médio por uma matriz peritrófica tipo I. As amastigotas levam 24 a 48 horas para se transformarem em promastigotas procíclicas na membrana peritrófica do intestino médio, onde sobrevivem no meio extracelular. Essas formas possuem um pequeno flagelo na extremidade anterior da célula e são capazes de se reproduzirem, preferencialmente por divisão binária. Cerca de 48 a 72 horas depois, elas se transformam em promastigotas nectomônas que são altamente móveis e migram para o lúmen do intestino médio, onde se ancoram as células epiteliais. Posteriormente, as mesmas vão em direção ao intestino médio anterior e se desenvolvem em leptomonas, formas mais curtas e recém-identificadas do parasito. Na válvula estomodeal do intestino, as promastigotas podem se diferenciar em haptomonas e metacíclicas. As haptomonas possuem flagelos curtos e imóveis e formam um tampão parasitário na válvula estomodeal. Por fim, as promastigotas metacíclicas, formas de corpo celular pequeno com flagelo alongado que confere rapidez a locomoção, são capazes de infectar o hospedeiro vertebrado durante o repasto sanguíneo (FIGURA 6) (DOSTÁLOVÁ; VOLF, 2012; KAMHAWI, 2006).

Figura 6 - Ciclo biológico de *Leishmania* em um vetor competente, ilustrando a aparência dependente do tempo de formas morfológicas distintas de promastigotas dentro do intestino médio do flebotomíneo (adaptado).

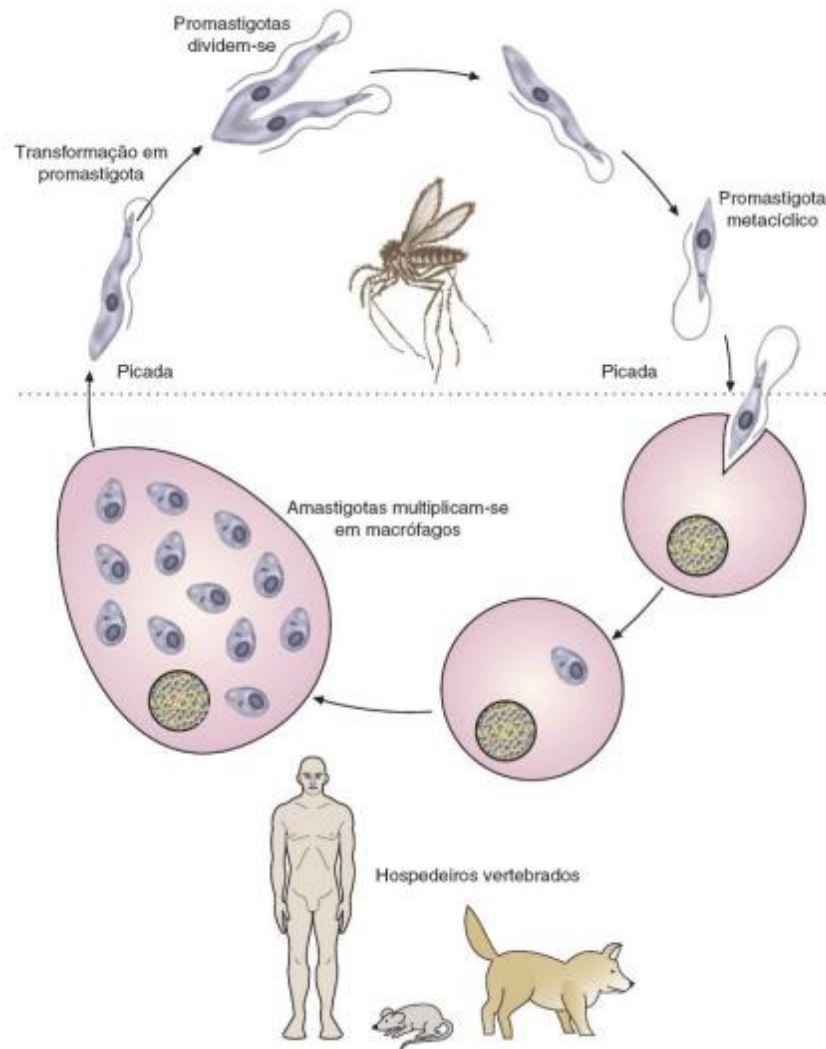


Legenda: Formas promastigotas e suas respectivas localizações no trato digestório do inseto vetor. Azul: promastigotas procíclicas se encontram no intestino médio. Vermelho: nectomônada migra da matriz peritrófica para o lúmen do intestino. Mostarda: leptomonas presentes no intestino médio anterior. Verde: metacíclica na válvula estomodeal. Amarelo: haptomona na válvula estomodeal formando tampão parasitário.

Fonte: KAMHAWI, 2006.

A transmissão para o hospedeiro vertebrado é baseada em duas hipóteses: a primeira afirma que as promastigotas produzem uma barreira física na válvula estomodeal, fazendo com que o flebotomíneo regurgite o parasito durante a alimentação; já a outra acredita que apenas as promastigotas presentes na probóscide do inseto estão envolvidas na transmissão. No vertebrado, as promastigotas são capazes de resistir a lise por moléculas do sistema do complemento, mecanismo importante do Sistema Imune. As células fagocitam as promastigotas, que por sua vez, são resistentes à digestão fagolisossomal e são capazes de sobreviver no interior da célula. Por fim, se estabelecem como parasito intracelular nos macrófagos e se diferenciam em amastigotas, que posteriormente se multiplicam e causam a morte da célula (FIGURA 7) (BATES, 2007; PALTRINIERI et al., 2016).

Figura 7 - Ciclo de vida da *Leishmania*.



Legenda: Formas amastigotas infectam o inseto vetor e se transformam em promastigotas procíclicas. As mesmas se reproduzem por divisão binária e sofrem alterações morfológicas e funcionais enquanto migram no trato digestório do hospedeiro. As formas promastigotas metacíclicas infectam o hospedeiro vertebrado, onde se estabelecem como parasitas intracelulares. Nos macrófagos, os parasitas se transformam em amastigotas e se multiplicam.

Fonte: Ferreira, 2021.

2.6 Leishmanioses

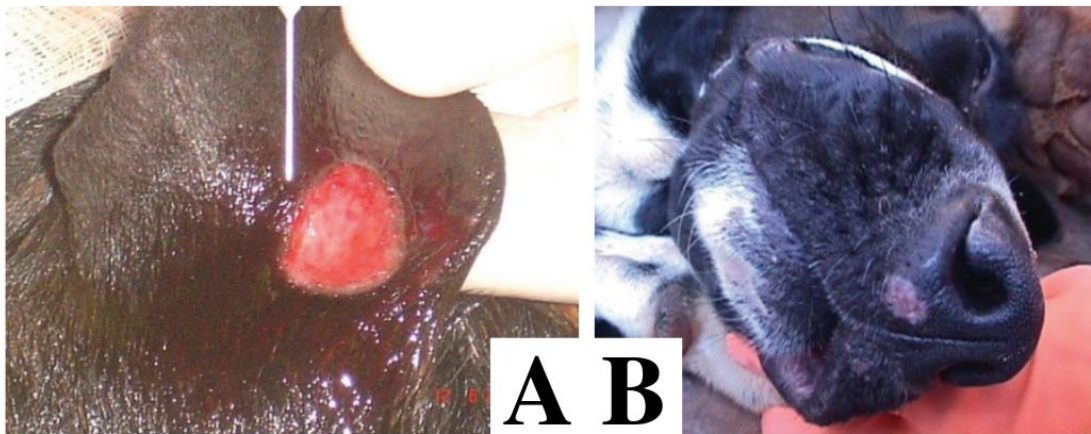
As manifestações das leishmanioses possuem um importante espectro clínico, abrangendo desde lesões cutâneas indolores a casos viscerais fatais (DOSTÁLOVÁ; VOLF, 2012; LIEZBETH et al., 2013). O complexo de doenças pode ser agrupado em duas principais

formas: Leishmaniose Tegumentar e Visceral (LESSA et al., 2007). Além disso, a intensidade dos sinais clínicos está relacionada com o perfil de resposta imune, idade, nutrição e comorbidades do indivíduo, a espécie do parasito, virulência da cepa e carga parasitária inoculada (SANTOS et al., 2021; SILVA, 2007; VALLE, 2021).

2.6.1 Leishmaniose Tegumentar Americana

A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA), também conhecida como “Úlcera de Bauru” afeta principalmente a pele formando lesões cutâneas. Suas apresentações clínicas variam desde a forma Cutânea Localizada, na qual há a formação de úlceras indolores, a Mucocutânea com a formação de lesões nasofaríngeas agressivas (LIEZBETH et al., 2013). Nos cães, a principal manifestação da doença é a formação de uma pequena lesão eritemato-papulosa que posteriormente forma uma úlcera (FIGURA 8) (SOUSA et al., 2021). Diversas espécies são responsáveis pela LTA, destacando-se *L. braziliensis*, *L. amazonensis*, *L. guianensis*, *L. panamensis* e *L. mexicana* (LESSA et al., 2007).

Figura 8 – Sinais Clínicos da Leishmaniose Tegumentar em cães.



Legenda: A – formação de ulcera na orelha; B – ferida na região do focinho em processo de cicatrização.

Fonte: CRMV, 2015.

2.6.2 Leishmaniose Visceral

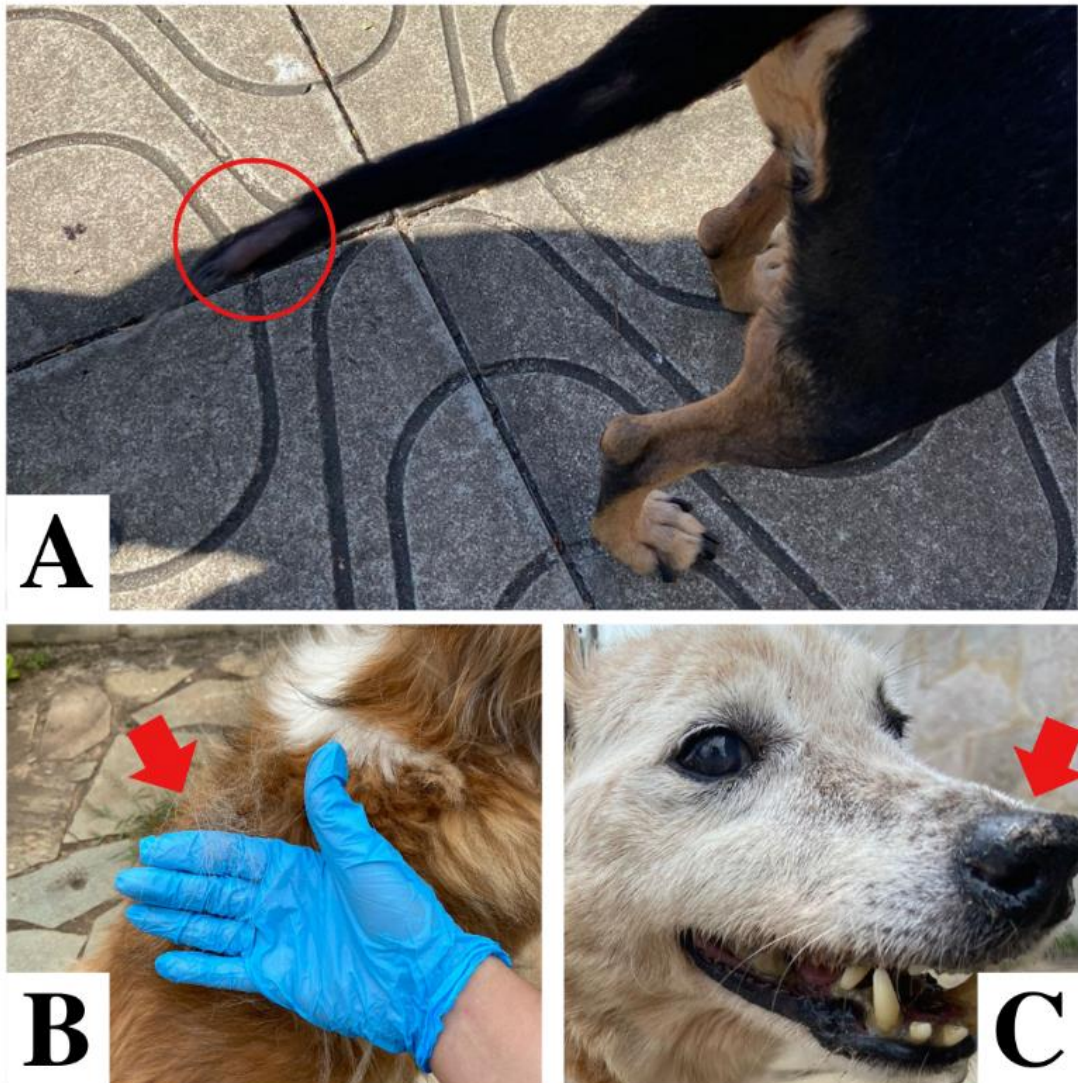
A LV ou Calazar (indiana) é a forma mais severa da doença, causada por espécies do “complexo donovani”, atualmente formado por *L. donovani*, causadora da doença na Índia,

Ocidente Africano, Bangladesh e Nepal, e *L. infantum* recorrente nas Américas (KUHLS et al., 2011; LUKES et al., 2007; MAURÍCIO et al., 2000; SIQUEIRA, 2018). As espécies *L. tropica*, presente no Oriente Médio, e a *L. amazonensis*, na América do Sul, são ocasionalmente encontradas em vísceras (NUNES, 2020). A doença é de grande importância para a saúde pública devido à elevada morbidade e mortalidade, sendo fatal em 95% dos casos não tratados. Cerca de 200 milhões de pessoas estão sob risco de adquirirem a doença (WHO, 2022).

As manifestações clínicas em humanos incluem: febre ondulante, perda de peso, esplenomegalia, hepatomegalia, linfadenopatias e anemia. Além disso, podem afetar diversos órgãos internos, como fígado, baço e linfonodos (SOUSA et al., 2021). Os indivíduos doentes são geralmente imunossuprimidos com potencial de adquirir infecções secundárias, além disso, a LV também pode ser uma das doenças oportunistas associadas à Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), no qual o registro de coinfeção atinge 11,1% em 2019 (BRASIL, 2021; LIEZBETH et al., 2013; VAN GRIENSVEN et al., 2010). Os casos assintomáticos observados em humanos e o papel dessas infecções na transmissão da doença, bem como a incidência e impacto dos mesmos ainda não são bem elucidados pela literatura (NASCIMENTO et al., 2008).

Nos cães, o quadro clínico é variável e possui uma vasta gama de sinais, sendo os mais comuns: caquexia; hipergamaglobulinemia; hepatoesplenomegalia; anemia; emagrecimento; linfadenopatia; úlceras crostosas na orelha, focinho e região periorbital; descamação furfurácea e alopecia multifocal (FIGURA 9). Apesar da doença ser de caráter crônico, sistêmico e potencialmente fatal, os cães também podem ser assintomáticos, sem a apresentação de sinais clínicos compatíveis com a LV e até mesmo oligossintomáticos, no qual os sintomas são leves (GRIMALDI et al., 2017; SILVA, 2007).

Figura 9 - Manifestação clínicas em cães soropositivos para LV no inquérito sorológico realizado pela Vigilância Sanitária de Ribeirão Vermelho/MG em março de 2022.



Legenda: A – alopecia no rabo; B – queda de pelos; C – formação de crostas no focinho.

Fonte: Do autor, 2022.

2.7 Prevenção, controle e tratamento

Em 2006, o Ministério da Saúde (MS) criou o Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (PVCLV) na tentativa de implementar medidas baseadas em análises epidemiológicas, incluindo o diagnóstico e tratamento de casos humanos, redução das populações de vetores, eliminação de reservatórios e ações de educação em saúde (MORAIS et al., 2015; ZUBEN; DONALÍSIO, 2016). Outras medidas como, aplicação de inseticidas, instalação de telas e mosquiteiros em domicílio e o uso de coleiras antiparasitárias a base de

Deltametrina, também foram implementadas como forma de controle e prevenção (NUNES et al., 2006).

Nesse contexto, a eutanásia de cães soropositivos é a principal medida de controle empregada pelo PVCLV. No entanto, estudos indicam que a eliminação dos cães não possui o impacto esperado, sendo apontada como uma medida controversa, devido a sua inefetividade em reduzir o número de casos humanos e caninos (COURA-VITAL et al., 2014; MORAIS et al., 2015; NUNES et al., 2006). Ainda, a falha dos métodos estabelecidos pelo PVCLV vem sendo atribuído ao atraso do diagnóstico e eliminação de cães soropositivos, a tendência em se substituir animais infectados por filhotes suscetíveis e a baixa sensibilidade dos testes sorológicos. Apesar dos esforços, o número de casos humanos e caninos segue em expansão nas áreas endêmicas do país (ZUBEN; DONALÍSIO, 2016).

O tratamento de animais é apontado pela literatura como uma forma alternativa de combate à doença, uma vez que podem ser eficazes em reduzir a carga parasitária. Diversas drogas (antimoniato de meglumina, anfotericina B, isotionato de pentamidina, alopurinol, cetoconazol, fluconazol, miconazol, itraconazol) são utilizadas por veterinários no tratamento da LV em cães, devido a potencial atividade antiprozoário. No entanto, o mecanismo e efetividade desses fármacos não é totalmente conhecido, sendo que os cães tratados podem voltar a apresentar sinais clínicos da doença e continuam sendo infectantes para o vetor. Além disso, o tratamento é de alto custo, apresenta efeitos tóxicos ao cão e uma crescente resistência dos parasitos contra as drogas existentes (AGALLOU et al., 2014; GRIMALDI et al., 2017; NERY et al., 2017).

O MS, através da Portaria Interministerial N° 1.426 de 11 de julho de 2008, proíbe o tratamento de cães diagnosticados com LV em todo território nacional. No entanto, em 2017, conforme a Instrução Normativa n° 35, o tratamento de cães passa a ser autorizado, desde que sejam utilizados produtos veterinários registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Atualmente, o Milteforan é o único medicamento regularizado e o tratamento não é configurado como uma medida de saúde pública, sendo de decisão exclusiva do tutor (BRASIL, 2016).

As vacinas também são apontadas como uma forma alternativa de controle, sendo considerada pela OMS uma importante ferramenta na erradicação da doença e diversas candidatas estão em fases de testes (LIEZBETH et al., 2013). No Brasil, a Leish-tec® é a única vacina licenciada para o uso profilático em cães soronegativos. Porém, apesar do efeito protetor promissor, estudos indicam um baixo impacto na redução de casos em áreas endêmicas (GRIMALDI et al., 2017).

2.8 Diagnóstico Canino

O diagnóstico clínico representa um desafio para veterinários e profissionais da saúde no cenário epidemiológico atual, porém o mesmo é essencial para o controle da doença e pode ser realizado através de diversas técnicas. Dentre elas, destaca-se os testes diretos como o exame parasitológico, feito através de biópsia ou punção aspirativa dos tecidos mais propícios à infecção, que tem como objetivo identificar, em uma busca ativa, as formas amastigotas do parasito. O material biológico é analisado em microscópio óptico a partir da confecção de esfregaço, impressão de lâminas histológicas, isolamento em meio de cultura ou inoculação em animais de laboratório. Tal técnica possui especificidade de 100%, porém, sua sensibilidade pode variar de acordo com o tecido da amostra utilizada, sendo que, em aspirado de medula óssea a mesma é de 50 a 83% (GONTIJO; MELO, 2004; MOTTA; EBERT; BATISTA, 2021). Outra técnica direta é a PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), capaz de detectar fragmentos de DNA de *Leishmania* na medula óssea de cães infectados. É considerada “padrão-ouro” devido a sua alta especificidade e sensibilidade, porém tem limitações, como o alto custo e a difícil coleta (PALTRINIERI et al., 2016).

A LV é caracterizada pela grande produção de anticorpos específicos contra antígenos do parasito, assim, os métodos sorológicos são importantes aliados no diagnóstico da doença, pois detectam anticorpos anti-*Leishmania* em uma amostra de sangue, soro ou plasma. Os testes rápidos são de fácil manipulação, acessíveis e rápidos, com resultado dentro de 15 minutos. Entretanto, apesar da sua praticidade em condições de campo, os testes rápidos possuem limitações como, falsos-negativos em casos de animais recém-infectados, bem como falsos-positivos devido à reação cruzada com infecções concomitantes. Ademais, os sinais clínicos inespecíficos, além da presença de muitos animais assintomáticos, tornam o diagnóstico de cães ainda mais desafiador (DE SANTIS et al., 2013; GONTIJO; MELO, 2004; SIQUEIRA et al., 2021).

No Brasil, até o ano de 2012, o MS utilizava o ensaio imunoenzimático (ELISA) como teste de triagem e a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) como teste confirmatório. A partir de 2012, o PVCLV passou a recomendar o uso do teste rápido imunocromatográfico composto pelos antígenos recombinantes rK26 e rK39, o DPP® Leishmaniose Visceral Canina-Bio-Manguinhos, para o uso em inquéritos sorológicos seguido pela confirmação com o ELISA. Trata-se de um teste qualitativo de triagem que utiliza a proteína A conjugada com partículas de ouro coloidal e antígenos recombinantes para *Leishmania* K28 (fragmentos K26, K39 e K9). O teste utiliza uma plataforma de duplo percurso (*Dual Path Platform*) que

apresenta dois poços compostos por uma membrana de nitrocelulose. No poço 1 é depositado a amostra coletada, já o poço 2 é ligado a membrana de revelação, que por sua vez, é sensibilizada com anti-*Leishmania* (COURA-VITAL et al., 2014; SIQUEIRA et al., 2021).

O rKDDR (“Kinesin Degenerated Derived Repeat”) é um antígeno recombinante composto por uma sequência recorrente de 8,5 blocos repetitivos de 39 aminoácidos da kinesina, que corresponde a 92% da sequência total da proteína presente em *L. infantum*. Em 2018, Siqueira e colaboradores aprimoraram o rKDDR e desenvolveram o antígeno recombinante KDDR-plus, constituído por cerca de 15 motivos repetitivos de 39 aminoácidos da proteína kinesina, amplificando seu potencial antigênico. O TR rKDDR-plus, desenvolvido pela empresa SafeTest Diagnósticos, é um teste de fluxo lateral feito em uma fita de nitrocelulose que possui uma área para absorção da amostra e outra composta por partículas de ouro coloidal ligadas aos anti-IgG canino (DHOM LEMOS, 2014; SIQUEIRA 2018).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Investigar a ocorrência de cães com sorologia positiva para Leishmaniose Visceral no município de Ribeirão Vermelho, Minas Gerais.

3.2 Objetivos Específicos

- Realizar o levantamento de casos de LVC diagnosticados no ano de 2022 em Ribeirão Vermelho;
- Comparar os resultados de testes sorológicos TR DPP® Leishmaniose Visceral Canina-Bio-Manguinhos e TR r-KDDR-plus realizados em Ribeirão Vermelho;
- Reportar os principais sinais clínicos associados aos cães com sorologia positiva para LV;
- Georreferenciar os casos de LVC diagnosticados no município de Ribeirão Vermelho;
- Identificar as áreas com maior densidade de cães com sorologia positiva para LV;

- Realizar ações de educação em saúde para conscientização a respeito da LV para a população e tutores do município.

4 JUSTIFICATIVA

A LV é a forma clínica mais grave das leishmanioses, um complexo de doenças negligenciadas, que geralmente se manifesta primeiramente na população canina e posteriormente nos humanos. Atualmente, a doença é endêmica em 88 países, onde infecta mais de 12 milhões de pessoas, afetando, principalmente, as pessoas mais carentes, as quais, além de sofrerem com a doença, ficam debilitadas e tem sua qualidade de vida reduzida.

Nas últimas décadas, a constante urbanização e avanço das atividades antrópicas contribuíram para o aumento de casos. Além disso, estudos também indicam a adaptação dos insetos vetores nas cidades, fazendo com que a doença perca seu caráter rural e abrange os grandes centros urbanos. Por conseguinte, o status epidemiológico da doença é agravado, ressaltando a importância das medidas preventivas e de controle na esfera da saúde única.

Nesse contexto, a Organização Mundial da Saúde, a fim de diminuir a morbidade e letalidade da doença, recomenda o uso conjunto de diversas estratégias de controle, incluindo o diagnóstico precoce e preciso de cães infectados. Sendo assim, o inquérito sorológico possui um papel fundamental na vigilância epidemiológica da LV, justificando a realização do presente estudo.

Apesar dos diversos esforços e medidas tomadas pelas autoridades públicas quanto às leishmanioses, diversos municípios do país carecem da investigação epidemiológica, sendo que, em Ribeirão Vermelho, área de estudo do presente trabalho, possui apenas um inquérito sorológico realizado por Alvarenga e colaboradores em 2019. Portanto, faz-se necessário os dados aqui fornecidos, uma vez que, auxiliam na antecipação de surtos epidêmicos, previsão do aumento de casos, bem como estratégias de controle e educação em saúde. Os resultados também permitirão orientar os serviços de Vigilância Sanitária do município quanto as medidas preventivas e de controle.

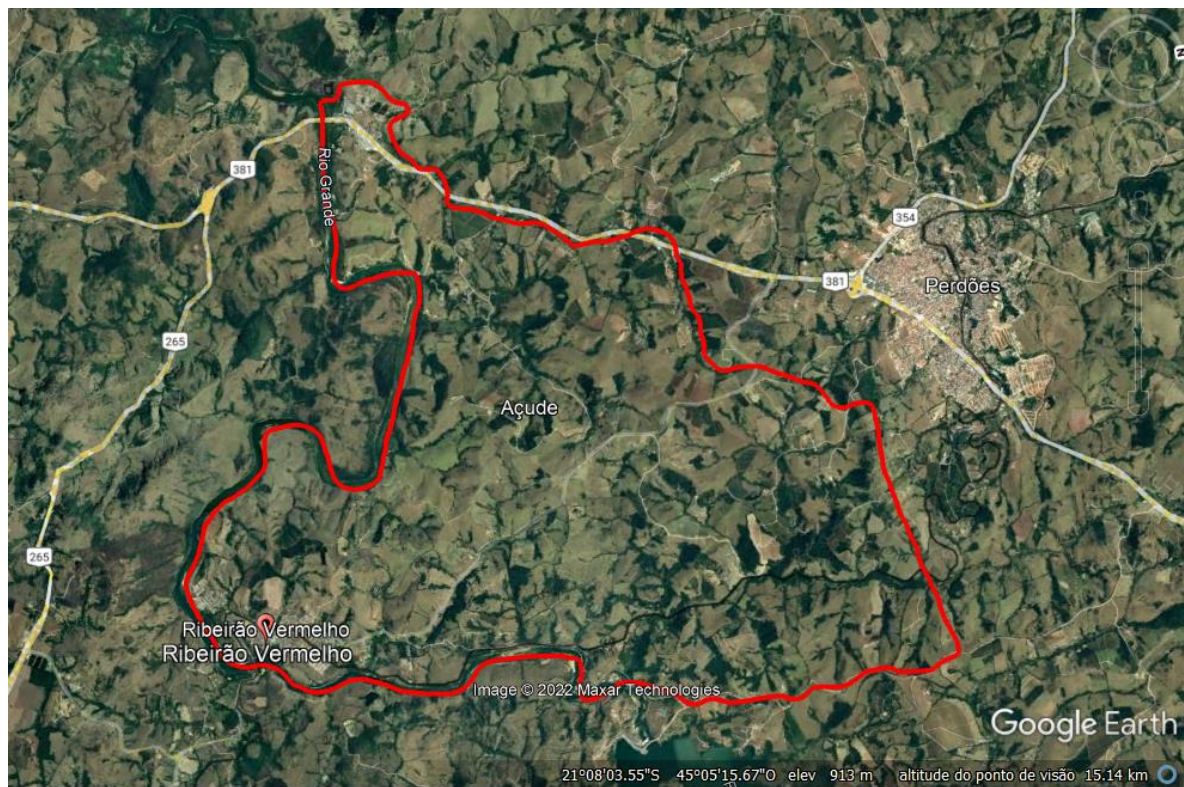
5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Área de Estudo

O estudo foi realizado no município de Ribeirão Vermelho (Figura 2), localizado na Mesorregião do Campo das Vertentes e na Microrregião de Lavras no estado de Minas Gerais. De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), Ribeirão Vermelho possui uma área territorial estimada (2020) de 49.251 km² e população estimada de 4.061 habitantes em 2021. Além disso, conta com duas unidades de saúde do Sistema Único de Saúde.

O município possui bioma com características de mata de transição entre Mata Atlântica e Cerrado, a região é montanhosa, sendo o Rio Grande sua principal bacia hidrográfica. Foi fundada em 1948, na qual a implantação da ferrovia propiciou o crescimento e desenvolvimento do município (IBGE, 2017).

Figura 10 - Mapa do município de Ribeirão Vermelho, Minas Gerais.



Legenda: Mapa do município de Ribeirão Vermelho/MG e delimitação do território evidenciada em vermelho.

Fonte: Google Earth, 2022.

5.2 Definição da amostra

De acordo com informações da Vigilância Sanitária, a população canina do município é estimada em 1200 indivíduos. A Vigilância Sanitária realizou uma divulgação de boca a boca, na qual todos os proprietários/tutores foram convidados para a realização dos testes rápidos de forma gratuita nos dias e horários definidos pela Prefeitura Municipal de Ribeirão Vermelho. Adicionalmente, foi realizado atendimento com livre demanda a todos que buscaram a Vigilância Sanitária para testagem fora dos dias definidos para as ações.

5.3 Campanha e inquérito soroepidemiológico

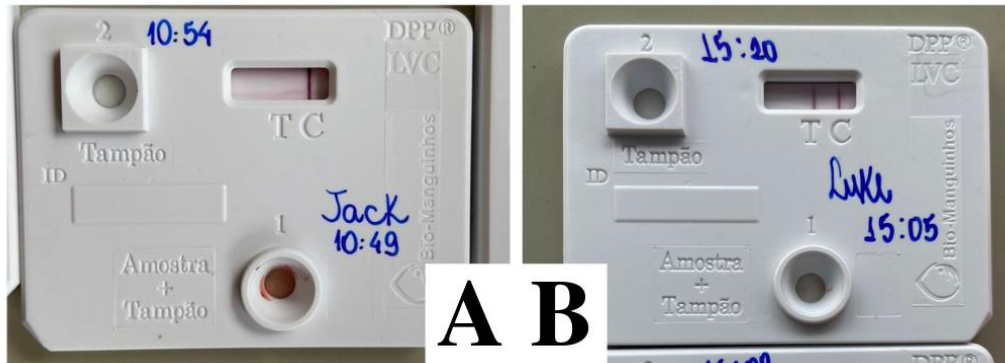
O presente estudo teve caráter descritivo, quantitativo e de base populacional, no qual foram utilizados dados secundários referente aos casos de LVC, cedidos pela Vigilância Sanitária do município de Ribeirão Vermelho no estado de Minas Gerais em parceria com o Núcleo de Estudos em Parasitologia (NEP) e Núcleo de Pesquisa Biomédica (NUPEB) da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Portanto, dispensa-se apreciação pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Lavras.

Os dados fornecidos foram coletados pela Vigilância Sanitária em duas campanhas realizadas no município, no dia 5 e 12 de março de 2022, das 8 às 16 horas, com o objetivo de identificar casos positivos de LVC no município, bem como conscientizar e orientar a população com relação a doença, através da distribuição de panfletos informativos (APÊNDICE A). As ações foram posicionadas em locais estratégicos no centro da cidade e onde há grande circulação de pessoas, a fim de abranger o maior número de cães.

5.4 Testes Sorológicos

No inquérito sorológico realizado pela Vigilância Sanitária de Ribeirão Vermelho/MG foi utilizado o TR DPP® Leishmaniose Visceral Canina-Bio-Manguinhos, recomendado pelo Ministério da Saúde como teste de triagem em inquéritos populacionais. O DPP® é um ensaio imunocromatográfico composto pelos antígenos recombinantes rK26 e rK39 (fragmentos K26, K39 e K9) que utiliza uma plataforma de duplo percurso, onde é detectado anticorpos anti-*Leishmania* (FIGURA 11) (GONDIM, 2022).

Figura 11 – Teste de DPP® LVC - Bio-Manguinhos utilizado durante inquérito sorológico realizado pela Vigilância Sanitária de Ribeirão Vermelho/MG em março de 2022.

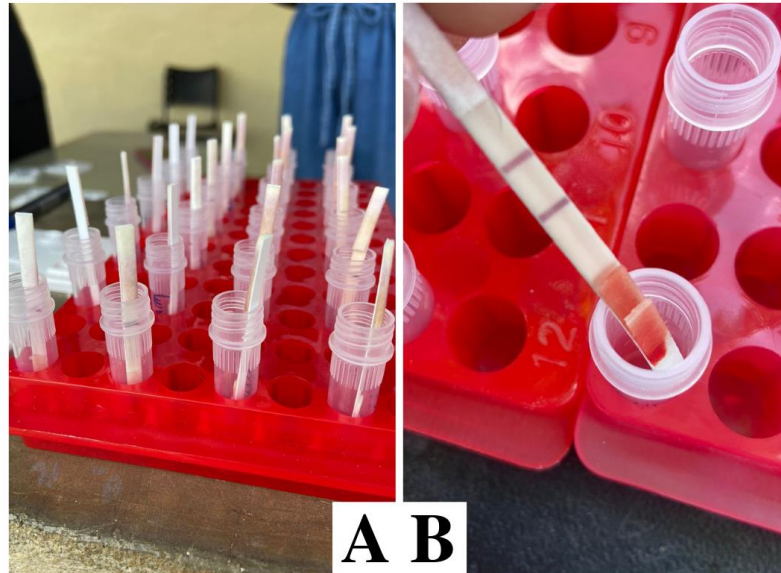


Legenda: (A) teste com aparecimento apenas da banda de controle indicando resultado negativo e (B) aparecimento da banda controle e teste indicando resultado positivo.

Fonte: Do autor, 2022.

Além do DPP®, também foi utilizado o TR r-KDDR-plus (Figura 12), que é um teste de fluxo lateral feito em uma fita de nitrocelulose, composto por partículas de ouro coloidal ligadas ao antígeno recombinante KDDR (“Kinesin Degenerated Derived Repeat”), baseado na porção repetitiva encontrada na proteína kinesina de *L. infantum*. Ambos testes indicam o resultado com 15 minutos, sendo que o aparecimento apenas da banda controle o resultado é negativo e o aparecimento de duas bandas o resultado é positivo. A leitura do teste foi feita por pelo menos dois observadores, que por sua vez, consideraram como positivo qualquer coloração presente na banda do teste. Em ambos os testes rápidos foram usadas amostras de sangue total retirada a partir de uma punção de ponta de orelha com lanceta estéril (FIGURA 13).

Figura 12 - Teste Rápido rKDDR-plus utilizado durante inquérito sorológico realizado pela Vigilância Sanitária do município de Ribeirão Vermelho/MG em março de 2022.



Legenda: A - teste KDDR sendo realizado em tubo de ensaio; (B) teste rKDDR com o aparecimento de duas bandas indicando resultado positivo.

Fonte: Do autor, 2022.

Figura 13 - Coleta realizada em cães durante inquérito sorológico realizado pela Vigilância Sanitária de Ribeirão Vermelho/MG em março de 2022.



Legenda: Contenção dos cães e coleta das amostras para a realização dos TR utilizados no inquérito sorológico.

Fonte: Do autor, 2022.

A Vigilância Sanitária do município irá coletar posteriormente uma amostra de sangue intravenoso nos cães sororreagentes para a realização do teste confirmatório ELISA e posteriormente tomar as medidas cabíveis e previstas no Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral do MS.

5.5 Análise de dados

Os dados cedidos pela Vigilância Sanitária de Ribeirão Vermelho/MG foram analisados através do software IBM® Statistical Package for the Social Sciences® na versão 26 e utilizou-se o Microsoft Excel 2019 para organização dos mesmos, elaboração de tabelas, gráficos e mapas de calor.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Investigação de casos caninos

O presente estudo foi constituído de uma amostra de 169, sendo 98 (58%) fêmeas e 71 (42%) machos, com idade mínima de 3 meses e máxima de 15 anos completos, com uma média de 7,11 anos (TABELA 1).

Tabela 1- Sexo e idade da população de cães domésticos submetidos aos testes sorológicos durante inquérito realizado pela Vigilância Sanitária do município de Ribeirão Vermelho/MG em março de 2022.

Característica		Frequência (%)
Sexo	Macho	42
	Fêmea	58
Idade (nº de anos completos)	< 1	6,5
	1 a 5	50,88
	6 a 10	18,34
	11 a 15	8,28
	Idade desconhecida	16

Fonte: Do autor, 2022.

Não foi possível o uso dos dois testes em todos os cães investigados, devido as dificuldades encontradas na coleta da amostra e na contenção dos animais. Assim, durante o

inquérito sorológico pelo menos um dos testes foi aplicado em cada um dos cães. Dentre eles, 165 (97,6%) foram submetidos ao teste rKDDR-plus e três (1,8%) foram soropositivos (Tabela 2), sendo dois (66,6%) machos e uma (33,33%) fêmea. Não foi possível realizar o teste em três cães (1,77%).

Dentre a amostra total, 116 (68,6%) cães também foram testados com o TR DPP® LVC-Bio-Manguinhos, no qual 14 (8,3%) foram soropositivos, sendo que sete (50%) eram machos e sete (50%) fêmeas. Não foi possível realizar o teste em 53 (31,36%) dos cães. Todos os cães soropositivos para o rKDDR-plus (3) também foram soropositivos para o DPP® (14).

Tabela 2 - Total de testes realizados, número de cães soronegativos e soropositivos para o TR DPP® LVC-Bio-Manguinhos e rKDDR-plus durante inquérito sorológico realizado pela Vigilância Sanitária de Ribeirão Vermelho/MG em março de 2022.

	Total de cães (n°)	Soropositivo (n°)	Soronegativo (n°)
DPP	116	14	102
rKDDR-plus	165	3	162

Fonte: Do autor, 2022.

Um estudo realizado por Siqueira e colaboradores em 2021, avaliou os antígenos recombinantes K39 e KDDR, utilizados no DPP® LVC-Bio-Manguinhos e rKDDR-plus, no qual obtiveram uma especificidade de 83% e 98%, respectivamente, em soro canino. Além disso, o rKDDR-plus demonstrou uma sensibilidade de 90% e especificidade de 100% quando comparado com o teste comercial IT LEISH®, também baseado no antígeno K39, que por sua vez, teve 79% de sensibilidade e 98% de especificidade.

Gondim (2022) verificou uma sensibilidade de 76% e especificidade de 100% para o teste DPP® em um estudo realizado em Lavras/MG. Ainda no mesmo estudo, foi observado a mesma especificidade para o TR rKDDR-plus e 72% de sensibilidade. No entanto, a sensibilidade de ambos testes caiu para 52,4% em cães assintomáticos. A não detecção de cães assintomáticos nos testes de triagem é preocupante e prejudica a acurácia do diagnóstico em uma população, dessa forma, os autores concluíram que o desempenho e acurácia dos testes eram insatisfatórios.

Tendo como base estudos anteriores e os resultados observados no presente trabalho, no qual o número de soropositivos no teste DPP® foi maior do que no rKDDR-plus, é possível observar que os TR fornecem dados heterogêneos. Assim, no presente cenário podemos ter uma

taxa elevada de falsos negativos e positivos, no qual a prevalência de cães soropositivos pode não refletir o número real de cães infectados. Portanto, apesar do potencial do diagnóstico sorológico é importante considerar e elucidar as limitações existentes, bem como, cuidado e rigor na escolha dos testes e amostras utilizadas. Além disso, é essencial que os cães soropositivos sejam submetidos à uma nova avaliação diagnóstica. Os cães soropositivos relatados no presente estudo serão submetidos ao teste ELISA, porém, tais resultados ainda não estão disponíveis. Por fim, é necessário a criação de um padrão de referência com a padronização das metodologias utilizadas e preconizadas pelo MS, a fim de superar as limitações encontradas nos TR e melhorar a acurácia dos inquéritos sorológicos (ALVARENGA, 2019; GONDIN, 2022; NARCISIO, 2019).

6.2 Sinais Clínicos

Dentre os cães sororreagentes no DPP®, dez (71,4%) dos animais não possuíam sinais clínicos, enquanto quatro (28,5%) apresentavam características equivalentes às descritas pela literatura (Gráfico 1), são elas: alopecia em diversas partes do corpo, pelos com aspecto opaco, hiperqueratose, descamações de ponta de orelha, lesões cutâneas, úlceras e crostas na região do focinho, emagrecimento, onicogribose, distúrbios e lesões oculares (FIGURA 15).

A Leishmaniose Visceral é uma doença crônica, potencialmente fatal e sistêmica, cujas manifestações representam um espectro clínico de grande importância, sendo ele inespecífico e diverso, podendo ser confundido com outras infecções, dificultando ainda mais o diagnóstico clínico da doença. As manifestações e sua intensidade estão relacionadas a fatores inerentes ao hospedeiro, como o perfil de resposta imune, idade, nutrição e comorbidades do indivíduo, bem como aqueles relacionados a espécie do parasito, virulência da cepa e carga parasitária inoculada. Os sintomas mais comuns são: caquexia, hipergamaglobulinemia, hepatoesplenomegalia, anemia e linfadenopatia. Nos cães é comum as manifestações dermatológicas, com a formação de úlceras crostosas na orelha, focinho e região periorbital, descamação furfurácea e alopecia multifocal (SANTOS et al., 2021; SILVA, 2007; VALLE, 2021).

Inicialmente, os flebotomíneos inoculam os parasitos na pele provocando uma resposta inflamatória local, o que contribui para a formação de feridas cutâneas. Posteriormente, ocorre a migração dos parasitos para as vísceras, podendo atingir qualquer órgão e tecido corporal. O período de incubação no cão é variável, com média de 3 a 7 meses e em alguns cães a infecção

pode permanecer latente, sem o aparecimento de sinais clínicos (GONDIM, 2022; VALLE, 2021).

Figura 14 - Sinais clínicos observados nos cães soropositivos para Leishmaniose Visceral, durante inquérito sorológico realizado pela Vigilância Sanitária do município de Ribeirão Vermelho/MG em março de 2022.



Legenda: A – onicogribose; B – lesões oculares e úlceras; C- alopecia e emagrecimento; D- descamações de ponta de orelha.

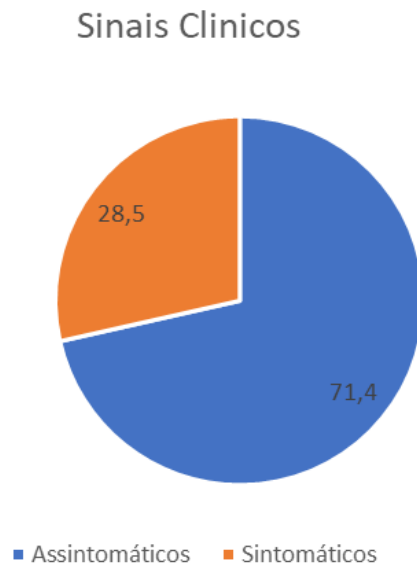
Fonte: Do autor, 2022.

Cerca de 50 a 60% dos cães com LV não apresentam sinais clínicos, sendo esse é um fator preocupante, uma vez que, esses indivíduos possuem um papel silencioso na cadeia de transmissão e na manutenção da endemicidade da doença. Ademais, o impacto dos casos assintomáticos é de grande importância para a epidemiologia da doença, pois servem como

fonte de infecção para os vetores, contribuindo para a manutenção do ciclo do parasito (NASCIMENTO et al., 2008; VALLE, 2021).

Em um estudo citado anteriormente, realizado em município contíguo a Ribeirão Vermelho, o TR DPP® e rKDDR-plus foram mais efetivos em detectar cães sintomáticos, apresentando sensibilidade de 93,1% e 86,2%, respectivamente, já no grupo assintomático esse número chega a 52,4% (GONDIM, 2022). Portanto, é importante ressaltar tal limitação dos testes sorológicos, uma vez que, a presença de cães sem sinais clínicos é grande, inclusive no presente estudo (71,4%) (GRÁFICO 1).

Gráfico 1 – Cães sintomáticos (28,5%) e assintomáticos (71,4%) dentre a população total de soropositivos no inquérito realizado pela Vigilância Sanitária de Ribeirão Vermelho/MG em março de 2022.



Fonte: Do autor, 2022.

6.3 Georreferenciamento

No bairro Engenho da Serra verificou-se a maior prevalência de cães soropositivos, sendo seis (42,85%) cães positivos no TR DPP® LVC-Bio-Manguinhos (TABELA 2). No entanto, observando a distribuição dos cães soropositivos no município (FIGURA 15), foi possível observar que os casos caninos não se concentram em apenas uma região e estão amplamente distribuídos em cinco bairros do município (TABELA 3).

Desde a década de 1980, observa-se o aumento da incidência de LV a partir da Floresta Atlântica rumo ao litoral brasileiro atingindo a Bahia, Espírito Santo, Mato Grosso, Minas Gerais, entre outros estados. O aumento de casos é atribuído ao avanço da urbanização e a adaptação dos flebotomíneos ao ambiente modificado, sendo comum encontrá-los próximos às residências. Por conseguinte, observa-se a expansão da área de abrangência e o aumento da endemicidade das leishmanioses no país (GONTIJO; MELO, 2004; NASCIMENTO et al., 2008).

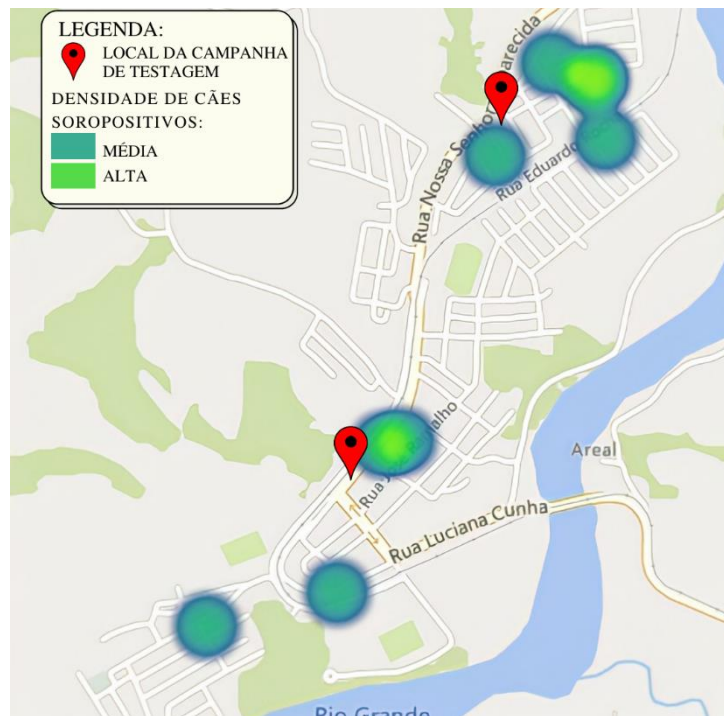
Não foi possível realizar o levantamento entomológico no presente estudo, porém, é importante ressaltar que o município é cercado por matas residuais próximas a residências, essas por sua vez, podem possuir um importante papel na cadeia de transmissão. Nesse contexto, em 2019, Alvarenga fez um levantamento entomológico na região, no qual 443 espécimes de flebotomíneos foram coletados, dentre eles, 157 foram testados para a verificação da presença de DNA de *Leishmania*, no qual 21 foram positivos na técnica de PCR. Além disso, 73,81% (327) dos flebotomíneos encontrados eram da espécie *Lu. longipalpis*, considerado o principal vetor das leishmanioses nas Américas. Os dados do presente estudo, associados aos resultados do inquérito entomológico realizado por Alvarenga (2019), demonstram a importância epidemiológica da LV no município de Ribeirão Vermelho e a necessidade da implementação de ações de educação em saúde e estabelecimento de protocolos de prevenção e controle da doença, a fim de evitar mais casos caninos e humanos, uma vez que trata-se de uma zoonose.

Tabela 3 - Inquérito Sorológico de LVC com relação a quantidade de cães machos, fêmeas, positivos e prevalência dos mesmos em cada bairro participante das campanhas realizadas no município de Ribeirão Vermelho/MG em março de 2022.

Bairros	Sexo (n°)		Total (n°)	Cães positivos (n°)	
	Fêmea	Macho		DPP	rKDDR-plus
A. Cruzeiro	1	1	2	0	0
Alto do Rio Grande	5	5	10	0	0
Amoreira	1	1	2	0	0
Boa vista	0	1	1	0	0
Centro	38	25	63	3	1
Engenho da Serra	33	25	58	6	1
Jardim Rio Grande	1	2	3	1	0
M. Nobre	2	0	2	0	0
Morada nova	4	1	5	0	0
Nossa Senhora Aparecida	3	5	8	2	1
Rancharão	2	2	4	0	0
Recanto das Flores	3	1	4	2	0
Recanto dos Passaros	2	1	3	0	0
Zona Rural	3	1	4	0	0
Total	98	71	169	14	3

Fonte: Do autor, 2022.

Figura 15 - Distribuição geográfica e densidade de cães soropositivos para LV por bairros no município de Ribeirão Vermelho/MG no inquérito sorológico realizado pela Vigilância Sanitária em março de 2022.



Legenda: Mapa de calor com relação a densidade de cães soropositivos distribuídos por bairros no município de Ribeirão Vermelho/MG, no qual a presença de 2 casos é considerada média e a partir de 4 casos alta. Os locais onde as campanhas de testagem foram realizadas são indicadas no mapa.

Fonte: Do autor, 2022.

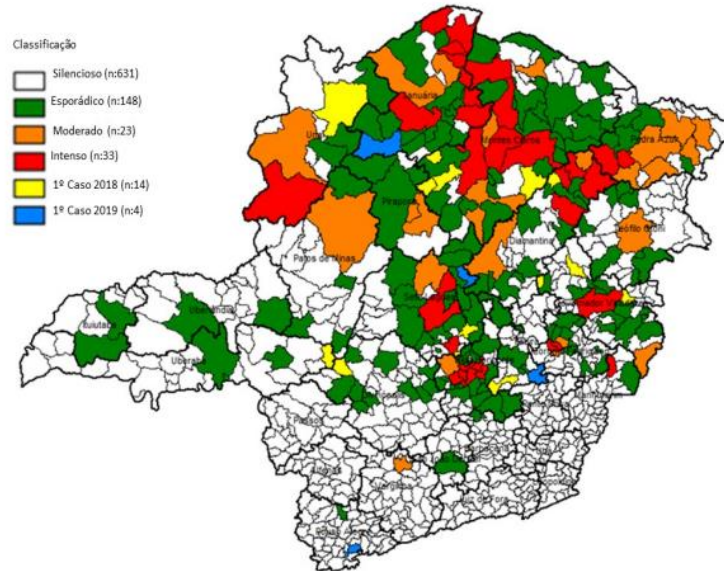
6.4 Aspectos epidemiológicos

Ribeirão Vermelho/MG era classificado como área vulnerável até 2019, quando na investigação feita por Alvarenga e colaboradores, foram encontrados 4,02% de cães com sorologia positiva (n=348), prevalência maior que os 2% recomendado pelo MS, ressaltando a importância da vigilância epidemiológica e investigação de casos, colocando o município como área de transmissão recente. Assim, é importante destacar o número de casos positivos relatados pelo presente estudo (DPP = 8,3%), uma vez que, indicam a não redução dos mesmos em um período de dois anos e a necessidade de revisar as medidas de vigilância em vigor, realizar inquéritos sorológicos periodicamente, bem como utilizar as medidas de controle existentes de forma conjunta.

O PCLV tem como objetivo reduzir as taxas de letalidade e morbidade das leishmanioses através do diagnóstico e tratamento precoce dos casos em humanos, visando diminuir os riscos de transmissão mediante o controle da população de insetos vetores e reservatórios. Para isso, é preconizada a investigação, monitoramento e levantamento entomológico; vigilância canina através da realização de inquéritos sorológicos; notificação, classificação e investigação de casos e óbitos. De acordo com o Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral, municípios com percentual de casos maior que 2% devem ser investigados, além da implementação de diversas medidas de controle como: ações de educação em saúde, busca ativa de cães sintomáticos, limpeza de locais públicos, alertar os profissionais da saúde, entre outros (BRASIL, 2006).

É importante destacar o cenário epidemiológico do estado de Minas Gerais, onde a LVH é endêmica, com aumento da taxa de incidência de casos nos últimos anos (3,8% em 2017), bem como a expansão para diversas regiões (FIGURA 16). Sua ocorrência é descrita desde a década de 1940 no Norte de Minas Gerais e em 1960 no Vale do Rio Doce. O primeiro caso humano foi em 1989 em Sabará e na capital, Belo Horizonte, em 1994 (BRASIL, 2020).

Figura 16 – Estratificação baseada na média de casos registrados de Leishmaniose Visceral em 2019 no estado de Minas Gerais.



Legenda: Municípios em: branco – silencioso; verde – esporádico; laranja – moderado; vermelho – intenso; amarelo – primeiro caso em 2018; azul primeiro caso em 2019.

Fonte: BRASIL, 2020.

É importante ressaltar que, além da presença de flebotomíneos, a doença é reportada em cães e em humanos por outros autores em municípios vizinhos. Em Nepomuceno, localizada a 30,7 km de Ribeirão Vermelho, casos autóctones de LVC foram relatados em 2019. Já em Lavras, município contíguo a Ribeirão Vermelho, localizado a 11,3 km de distância, a LVC obteve 6,5% de prevalência em um inquérito realizado com TR DPP® no período de 2014 a 2018 (BLANCO, 2019). Além disso, a doença é evidenciada como endêmica na cidade, onde sete casos de LVH foram diagnosticados nos últimos 10 anos, dentre eles, dois pacientes vieram a óbito durante o tratamento (NARCISIO, 2019). Os estudos realizados na região alertam quanto a presença dos insetos vetores, bem como a expansão da doença para as cidades vizinhas, incluindo: Lavras, Campo Belo, Ijaci, Nepomuceno e Ribeirão Vermelho (FIGURA 17) (CASTRO, 2017; BARÇANTE, 2018; NARCISIO, 2016; GONDIM, 2022). Dessa forma, a vigilância deve ser ajustada e as medidas de prevenção e controle em vigor rigorosas, a fim de investigar e controlar a epidemiologia das cidades na região.

Figura 17 – Localização do Município de Ribeirão Vermelho/MG e cidades vizinhas onde há casos de LVC registrados.



Legenda: Mapa com destaque em vermelho para as cidades (Lavras e Nepomuceno) próximas a Ribeirão Vermelho com relato de casos de LVC.

Fonte: Adaptado de GOOGLE MAPS, 2022.

No cenário epidemiológico, a alta prevalência da LV é primeiramente relatada em cães e posteriormente em humanos, assim como foi observado em Lavras/MG, onde houveram os primeiros casos de LVH três anos após os caninos (NARCISIO, 2016). Tal fator ressalta a importância da vigilância de casos de LVC, visto que, os cães são reservatórios do parasito e servem como fonte de infecção para os vetores, precedendo os casos humanos. Além disso, fica evidente a expansão da doença na região do presente estudo, vulnerabilizando a população da cidade que é em sua maioria de baixa renda.

De acordo com a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS), a vigilância e controle das leishmanioses também foi afetada pela pandemia de COVID-19, prejudicando a busca ativa, detecção e diagnóstico precoce de casos, dentre outras ações essenciais.

O cenário epidemiológico da LV é desafiador, bem como a implementação e efetividade das medidas de controle e prevenção. A realização do inquérito sorológico periodicamente é

essencial, assim como: a investigação entomológica; eliminação de vetores através da limpeza de locais propícios ao acúmulo de matéria orgânica ou até mesmo a dedetização; a vacinação e uso de coleiras antiparasitárias tanto para cães domiciliados quanto para cães de rua; ações de educação em saúde a fim de conscientizar a população; investimento em pesquisa e criação de uma vacina ou outras medidas que auxiliem na prevenção e no tratamento da doença; entre outras medidas cabíveis. Além disso, a LV é negligenciada e atinge as populações mais pobres dos países onde ocorre, por isso é importante ressaltar a importância da atuação das autoridades públicas para que essas ações sejam possíveis. Portanto, a LV é uma doença grave e complexa, assim como o seu combate, sendo fundamental a atuação da saúde única, que se refere a saúde ambiental, animal e humana como esferas que atuam em conjunto.

6.5 Ações de educação em saúde

Durante a realização das campanhas de testagem, panfletos informativos foram distribuídos com o objetivo de conscientizar a população quanto a LV (APÊNDICE A). As ações de educação em saúde, além de serem preconizadas pelo MS, constituem um pilar essencial ao combate à LV, uma vez que os tutores são responsáveis pelos cães e locais que eles vivem, contribuindo de forma direta para a prevenção e controle da doença (BRASIL, 2006).

Tendo em vista, o cenário epidemiológico da LV no município de Ribeirão Vermelho/MG e os casos de cães soropositivos relatados pelo presente estudo, é importante trabalhar de outras formas as ações de educação em saúde, sendo possível sua aplicação em escolas de ensino fundamental e médio por meio de aulas e palestras, bem como pelos veículos comunicativos de divulgação audiovisual (rádio, internet, tv, entre outros) e pelos meios impressos (jornais, cartazes) através da realização de campanhas, propagandas e reportagens.

7 CONCLUSÃO

A partir do presente trabalho, pode-se concluir que:

- A análise sorológica evidenciou a presença de cães soropositivos para antígenos de *L. infantum* no município de Ribeirão Vermelho/MG, no ano de 2022, tanto no teste rápido DPP® LVC-Bio-Manguinhos quanto no rKDDR-plus.

- O número de animais soropositivos foi maior quando utilizamos o DPP® LVC-Bio-Manguinhos em comparação com o rKDDR-plus.
- A maioria dos animais com sorologia positiva não apresentavam sinais clínicos compatíveis com LVC. Dentre os cães positivos, dez (71,4%) não possuíam sinais clínicos, enquanto quatro (28,5%) apresentavam características equivalentes a LV descritas pela literatura.
- Os cães com sorologia positiva para antígenos de *L. infantum* estão amplamente distribuídos pelo município, onde observa-se a presença de cães sororreagentes em cinco bairros do município, com destaque para Engenho da Serra.
- O município de Ribeirão Vermelho possui um cenário epidemiológico importante e que merece a devida atenção, uma vez que, o diagnóstico precoce e investigação de casos de LVC são fundamentais para o controle da doença e fazem parte das medidas preconizadas pelo Ministério da Saúde.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGALLOU, M. et al. Experimental Validation of Multi-Epitope Peptides Including Promising MHC Class I- and II-Restricted Epitopes of Four Known *Leishmania infantum* Proteins. **Frontiers in Immunology**, v. 5, 10 jun. 2014.

ALVARENGA, I. M. Leishmaniose Visceral: Caracterização de uma nova área de transmissão, de um antigo problema de saúde pública. **Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras**, Lavras, 2019.

BARÇANTE, OZIANA M. First report of *Nyssomyia whitmani* (antunes & coutinho, 1939) and *pintomyia fisheri* (pinto, 1926) in a transmission area of American cutaneous leishmaniasis, in south of minas gerais state, Brazil. **Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research**, v. 7, n. 3, 4 jun. 2018.

BATES, P. A. Transmission of *Leishmania* metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies. **International journal for parasitology**, v. 37, n. 10, p. 1097-1106, Aug, 2007.

BLANCO, Y. A. C. Identification and observational epidemiological study of flebotomine fauna (diptera: psychodidae: phlebotominae) in the transmission area of canine visceral Leishmaniasis in the municipality of Lavras, Minas Gerais, Brazil. 2019. 49 p. **Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal de Lavras**, Lavras, 2019.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Nota técnica conjunta N° 11/2016/CPV/DFIP/SDA/GM/MAPA**, Brasília, 2016.

BRASIL. Boletim Epidemiológico. Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde. **Doenças Tropicais Negligenciadas**. Número Especial, 2021. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/boletins-epidemiologicos/especiais/2021/boletim_especial_doencas_negligenciadas.pdf. Acesso em 09 de abril de 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília: **Editora do Ministério da Saúde**, 2006.

BRASIL. Secretaria de Estado de Saúde Coordenação de Zoonoses Vigilância de fatores de Riscos Biológicos. **Informe Epidemiológico Leishmaniose Visceral- Minas Gerais**. Nota Técnica nº 3/SES/SUBVS-SVE-DVAT-CZVFRB/2020. Disponível em: <http://vigilancia.saude.mg.gov.br/index.php/download/nota-tecnica-no-03-2020-informe-epidemiologico-leishmaniose-visceral-minas-gerais/?wpdmdl=8047>. Acesso em 09 de abril de 2022.

BRAZIL, R. P. The dispersion of *Lutzomyia longipalpis* in urban areas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 46, n. 3, p. 263–264, jun. 2013.

BRAZIL. DEPARTAMENTO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. [s.l.] Editora MS, 2003.

BRODSKYN, C. I.; KAMHAWI, S. Biomarkers for Zoonotic Visceral Leishmaniasis in Latin America. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 8, 26 jul. 2018.

CASTRO, J.C. et al. Investigação da fauna flebotomínica e sua infecção por *Leishmania spp.*, no município de Lavras, MG, Brasil. **Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras**, p. 58., 2017.

COURA-VITAL, W. et al. Evaluation of Change in Canine Diagnosis Protocol Adopted by the Visceral Leishmaniasis Control Program in Brazil and a New Proposal for Diagnosis. **PLoS ONE**, v. 9, n. 3, p. e91009, 7mar. 2014.

CRMV. Conselho Regional de Medicina Veterinária. Manual Técnico de Leishmanioses Caninas. 2015. Disponível em: <https://www.crmv-pr.org.br/uploads/publicacao/arquivos/Manual-tecnico-de-leishmanioses-caninas.pdf>. Acesso em 06 de abril de 2022.

DANTAS-TORRES, F. The role of dogs as reservoirs of *Leishmania* parasites, with emphasis on *Leishmania (Leishmania) infantum* and *Leishmania (Viannia) braziliensis*. **Veterinary parasitology**, v. 149, n. 3, p. 139–146, 2007.

DE SANTIS, B. et al. Desempenho do teste rápido imunocromatográfico (TRI) para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina: comparação com outros métodos sorológicos em cães suspeitos de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. **Brazilian journal of veterinary research and animal science**, v. 50, n. 3, p. 198, 2013.

DHOM-LEMOS LC. Expressão Heteróloga da rKDDR de *Leishmania infantum*: um novo antígeno recombinante para o diagnóstico da leishmaniose visceral. **Programa de Pós-graduação em Parasitologia [Dissertação]**. Belo Horizonte (MG): Universidade Federal de Minas Gerais; 2014.

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

DOSTÁLOVÁ, A.; VOLF, P. Leishmania development in sand flies: parasite-vector interactions overview. **Parasites & Vectors**, v. 5, n. 1, p. 276, 3 dez. 2012.

ESPECIAL, N. **Secretaria de Vigilância em Saúde | Ministério da Saúde**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br>>. Acesso em 09 de abril de 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, 15 abr. 2018.

FONSECA JÚNIOR, J. D. DA et al. Leishmaniose visceral canina: Revisão. **Pubvet**, v. 15, n. 3, p. 1–8, 2021.

FERREIRA, M. U. Parasitologia contemporânea. 2. ed.- Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 2021. 336 p.: il; 28 cm.

GALVIS-OVALLOS, F. et al. Canine visceral leishmaniasis in the metropolitan area of São Paulo: *Pintomyia fischeri* as potential vector of *Leishmania infantum*. **Parasite**, v. 24, p. 2, 30 jan. 2017.

GONDIM, C. N. et al. Visceral leishmaniasis in a recent transmission region: 27.4% infectivity rate among seronegative dogs. **Parasitology**, 149(5), 640-645. doi:10.1017/S0031182022000063, 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.

GRIMALDI, G. 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**, v. 12, n. 9, p. e0185438, 27 set. 2017.

IBGE. Brasil, Minas Gerais, Ribeirão Vermelho. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística | v4.6.18**. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mg/ribeirao-vermelho/panorama>. Acesso em 09 de abril de 2021.

KAMHAWI, S. Phlebotomine sand flies and *Leishmania* parasites: friends or foes? **Trends in Parasitology**, v. 22, n. 9, p. 439–445, set. 2006.

KILLICK-KENDRICK, R. The biology and control of Phlebotomine sand flies. **Clinics in dermatology**, v. 17, n. 3, p. 279–289, 1999.

KUHLS K, ALAM MZ, CUPOLILLO E, et al., Comparative microsatellite typing of new world *Leishmania infantum* reveals low heterogeneity among populations and its recent old world

origin. **PLoS Negl Trop Dis.**, v. 5(6), e. 1155, 2011.

LAINSON, R.; RANGEL, E. F. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil: a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 8, p. 811–827, dez. 2005.

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

LESSA, M. M. et al. Leishmaniose mucosa: aspectos clínicos e epidemiológicos. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v. 73, n. 6, p. 843–847, dez. 2007.

LIEZBETH, K. et al. **Vacinas Contra Leishmaniose: Uma Revisão Vaccines Vs Leishmaniasis: A Review Vacunas Contra La Leishmaniasis: Una Revisión** Arch Health Invest. [s.l: s.n.].

LUKES J, MAURICIO IL, SCHÖNIAN et al., Evolutionary and geographical history of the *Leishmania donovani* complex with a revision of current taxonomy. **Proc Natl Acad Sci.**, v. 104(22), p.9375–9380, 2007.

MAURÍCIO IL., STOTHARD JR., MILES MA. The strange case of *Leishmania chagasi*. **Parasitol Today.**, v. 16(5), p. 188-189, 2000.

MORAIS, M. H. F. et al. Avaliação das atividades de controle da leishmaniose visceral em Belo Horizonte, Minas Gerais, 2006-2011. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 24, n. 3, p. 485–496, set. 2015.

MOTTA, L. M.; EBERT, K. G.; BATISTA, K. Z. S. Diagnóstico imunológico e molecular da Leishmaniose Visceral Canina: Revisão. **Pubvet**, v. 15, n. 8, p. 1–7, 2021.

NARCISIO, T. P. Avaliação do estado epidemiológico e principais fatores relacionados à dinâmica das leishmanioses no município de Lavras, Minas Gerais, Brasil. **Dissertação (Doutorado em Ciências Veterinárias), Universidade Federal de Lavras**, Lavras, 2019.

NARCISO, T. P. Investigação do estado da leishmaniose visceral canina no município de Lavras – MG. 2016. 43 p. **Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)** - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

NASCIMENTO, E. L. T. et al. Forum: geographic spread and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. Postscript: new challenges in the epidemiology of *Leishmania chagasi* infection. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 24, n. 12, p. 2964–2967, dez. 2008.

NERY, G. et al. Avaliação da infectividade parasitária a *Lutzomyia longipalpis* por xenodiagnóstico em cães tratados para leishmaniose visceral naturalmente adquirida. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 7, p. 701–707, jul. 2017.

NICOLLE, C.; COMTE, C. Origine canine du kala-azar. **Bulletin de la Société de Pathologie Exotique**, v. 1, p. 299-301, 1908.

NUNES, A. G. et al. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose tegumentar americana em Varzelândia, Minas Gerais, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 22, n. 6, p. 1343–1347, jun. 2006.

NUNES, R. V. Diversidade genômica de *Leishmania infantum* isolados de cães naturalmente infectados no município de Januária, Minas Gerais, Brasil. **Tese (doutorado)** – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Parasitologia, 2020.

OPAS. Leishmanioses: Informe Epidemiológico das Américas. Núm. 10, dezembro de 2021. Disponível em: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/55386>. Acesso em 09 de abril de 2022.

PALTRINIERI, S. et al. Laboratory tests for diagnosing and monitoring canine leishmaniasis. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 45, n. 4, p. 552–578, dez. 2016.

ROSS, R. Further notes of Leishman's bodies. **British Medical Journal**, v. 2, p. 1401, 1903.

SANTOS, M. O. D. F. et al. Leishmaniose visceral canina: princípios do diagnóstico / Canine visceral leishmaniasis: principles of diagnosis. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 9, p. 92194–92200, 23 set. 2021.

SILVA, A. B. et al. Análise dos fatores que influenciam a ocorrência da Leishmaniose Visceral humana. **Cogitare Enfermagem**, v. 26, 12 ago. 2021.

SILVA, F. S. Patologia e patogênese da leishmaniose visceral canina. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas V.1**, n. 1, p. 20, 2007.

SIQUEIRA, W. F. et al. The increased presence of repetitive motifs in the KDDR-plus recombinant protein, a kinesin-derived antigen from *Leishmania infantum*, improves the diagnostic performance of serological tests for human and canine visceral leishmaniasis. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 9, p. e0009759, 17 set. 2021.

SIQUEIRA, W. F. rKDDR-plus: Desenvolvimento de um novo antígeno recombinante com alto grau de motivos repetitivos para o uso no sorodiagnóstico da leishmaniose visceral humana e canina. 2018. 102 p. **Dissertação (Mestre em Parasitologia)** - Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2018.

SOUSA, F. DAS C. A. et al. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral no estado do Piauí, Brasil. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 15, p. e121101522690, 2021.

SPIEGEL, C. N. et al. The *Lutzomyia longipalpis* complex: a brief natural history of aggregation-sex pheromone communication. **Parasites & Vectors**, v. 9, n. 1, p. 580, 14 dez. 2016.

VAN GRIENSVEN, J. et al. Combination therapy for visceral leishmaniasis. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 10, n. 3, p. 184–194, mar. 2010.

VALLE, P. G. Estadiamento e caracterização da proteinúria em cães naturalmente infectados com *Leishmania infantum*. **Tese (doutorado) apresentado a Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais**. Belo Horizonte, 2021.

WEYERS, W. William Boog Leishman-A Brief Reminder of His Life and Work on the Occasion of His 150th Birthday. **The American journal of dermatopathology**, v. 38, n. 6, p. 436–443, 2016.

WHO. The World Health Organization. **Leishmaniasis**. 2022. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>. Acesso em 06 de abril de 2022.

WHO. The World Health Organization. **Status of endemicity of visceral leishmaniasis worldwide**. 2020. Disponível em: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/2021-dha-docs/leishmaniasis_vl_2020.pdf?sfvrsn=17eea7b2_7. Acesso em 06 de abril de 2022.

ZUBEN, A. P. B. VON; DONALÍSIO, M. R. Dificuldades na execução das diretrizes do Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral em grandes municípios brasileiros. **Cadernos de saúde pública**, v. 32, n. 6, 2016

APÊNDICE A – Panfleto informativo

LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA

Você sabe o que é a LV?

A Leishmaniose Visceral ou Calazar é uma doença grave, causada por parasitos do gênero *Leishmania*, que acomete tanto os cães como os humanos. As crianças, idosos e imunocomprometidos são as principais vítimas da doença, a qual pode atingir uma letalidade de 95% quando não tratada.

Transmissão e Sintomas

A doença é transmitida através da picada do inseto vetor, o flebotomíneo, conhecido também como mosquito-palha, tatuira, cangalhinha, asa dura e birigui. As fêmeas do inseto picam o cão infectado, essa por sua vez, pode transmitir a doença aos humanos. Portanto, os cães servem como fonte de infecção, mas não são capazes de transmitir a doença através do contato direto com os humanos e nem com outros cães.



Quais são os sintomas nos humanos?

- Febre
- Aumento do Fígado e baço
- Emagrecimento
- Complicações circulatórias
- Sangramentos
- Desânimo
- Apatia
- Palidez e anemia



Como saber se seu cão está infectado?

Os sintomas da doença são diversos e incluem:

- Apatia
- Lesões na pele
- Queda de pelos
- Emagrecimento
- Lacrimejamento
- Crescimento anormal das unhas

Muitos cães podem ser assintomáticos, por isso, é importante o acompanhamento e diagnóstico dos mesmos. Lave seu cão regularmente ao veterinário e em caso de suspeita de LV procure a Secretaria de Saúde.



Como prevenir a doença e manter seu pet seguro?



Mantenha o animal e o ambiente em que ele vive limpo. Além disso, faça o uso de telas.

Evite o acúmulo de lixo e restos de alimentos próximo ao ambiente no qual os cães vivem.



Faça o uso de coleiras antiparasitárias à base de Deltametrina, que agem como repelentes contra pulgas, carrapatos e vetores da Leishmaniose. Mantenha a vacinação em dia.

Para proteger a sua família também é necessário proteger o seu cão!

