

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Veterinária



Tese

**Soroepidemiologia e conhecimento dos Médicos Veterinários para
leishmaniose visceral canina em municípios indenes do sul do RS**

Tábata Pereira Dias

Pelotas, 2024

Tábata Pereira Dias

**Soroepidemiologia e conhecimento dos Médicos Veterinários para
leishmaniose visceral canina em municípios indenes do sul do RS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (área de concentração: Clínica Médica Veterinária).

Orientador: Marlete Brum Cleff

Coorientador: Fabiano Borges Figueiredo

Pelotas, 2024

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação da Publicação

D541s Dias, Tábata Pereira

Soroepidemiologia e conhecimento dos Médicos Veterinários para leishmaniose visceral canina em municípios indenes do sul do RS [recurso eletrônico] : DPP®; ELISA; Pelotas; Rio Grande; Vigilância epidemiológica. / Tábata Pereira Dias ; Marlete Brum Cleff, orientadora ; Fabiano Borges Figueiredo, coorientador. — Pelotas, 2024.
70 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2024.

1. DPP®. 2. ELISA. 3. Pelotas. 4. Rio Grande. 5. Vigilância epidemiológica. I. Cleff, Marlete Brum, orient. II. Figueiredo, Fabiano Borges, coorient. III. Título.

CDD 636.7089696

Tábata Pereira Dias

Soroepidemiologia e conhecimento dos Médicos Veterinários para leishmaniose visceral canina em municípios indenes do sul do RS

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 05/04/2024

Banca examinadora:

Profa. Dra. Marlete Brum Cleff (Orientadora)
Doutora em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa. Dra. Natália Berne Pinheiro
Doutora em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Carlos Jaimes Scaini
Doutor em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas

Profa. Dra. Paula Costa dos Santos
Doutora em Ciências da Saúde pela Universidade Federal do Rio Grande

Profa. Dra Renata Osório de Faria
Doutora em Ciência Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Agradecimentos

Um trabalho nunca é realizado por apenas uma pessoa, existem muitas mãos para concretizar um feito e nessa tese não foi diferente. Agradeço a minha família pelo apoio incondicional a minha formação acadêmica, minha mãe Marta e meu namorado Marcos foram fundamentais nessa caminhada. Uma pessoa incrível que tive a sorte de conhecer e conviver foi minha orientadora Prof^a. Marlete, uma mulher forte, bondosa e competente, tornou-se mais que orientadora acadêmica, é uma amiga. Obrigada por tudo!

Agradeço a minha banca por ter aceito avaliar e contribuir com meu trabalho e ao meu co-orientador Prof. Fabiano, sempre solícito as minhas dúvidas. Prof. Fabiano é pesquisador no Instituto Carlos Chagas - Fiocruz-PR e agradeço tanto a ele como a instituição pela doação dos testes diagnósticos utilizados no projeto e ao Gustavo, pós-doc que realizou os testes confirmatórios nas amostras sororreagentes no DPP®.

Não há como não agradecer cada estagiário que se dedicou de alguma forma ao projeto e especialmente a bolsista de iniciação científica Maria Eduarda Rodrigues e as estagiárias Gabrielle Otti, Joara Costa e Juliana Gil, obrigada meninas! As minhas colegas da pós-graduação, todas vocês fazem parte dessa conquista! Vittoria Bassi, obrigada pela parceria de anos e por ter dedicado dias das férias para me ajudar e Vitória Freitas pela dedicação e compromisso com nossa nova etapa em Bagé. Com certeza absoluta isso não teria saído do papel, se não houvesse a contribuição de cada uma de vocês. Obrigada pela dedicação e companheirismo durante todos esses anos.

E tudo só foi possível graças a uma estrutura fornecida pela Universidade Federal de Pelotas, de quem sou descendente desde a graduação. Recebi uma educação pública, de qualidade e fui agraciada com auxílios que permitiram minha permanência na instituição para a construção da minha jornada profissional. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001", apoio

fundamental para mim e a todos os pós-graduandos que se dedicam a ciência no Brasil.

Resumo

DIAS, Tábata Pereira. **Soroepidemiologia e conhecimento dos Médicos Veterinários para leishmaniose visceral canina em municípios indenes do sul do RS.** 2024. 73f. Tese (Doutorado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2024.

A leishmaniose visceral canina (LVC) é uma doença parasitária vetorial que está em franca expansão geográfica com registro de casos autóctones no Rio Grande do Sul (RS) desde 2006. Áreas indenes, como o município de Pelotas, Rio Grande e Bagé não fazem parte da vigilância epidemiológica ativa para LVC, mas a região conta com fatores predisponentes para a implantação da doença. O conhecimento de profissionais de saúde que atuam em áreas endêmicas para LV com frequência é reportado nos estudos como insuficiente e acredita-se que em áreas indenes a situação seja ainda pior, o que tem consequências na prevenção e controle da enfermidade. Diante do exposto, considerando a relevância dos cães como sentinelas da presença de *Leishmania infantum* nos municípios, a expansão da LV no RS e a relevância dos médicos veterinários como promotores da saúde, foram objetivos desse trabalho: realizar inquérito soroepidemiológico em amostras de soro dos cães atendidos no Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal de Pelotas (HCV-UFPel), situado no município de Capão do Leão e referência na região e avaliar o conhecimento dos médicos veterinários que atuavam nos municípios de Pelotas e Rio-Grande no RS sobre a parasitose. O inquérito ocorreu no período de três anos, seguindo-se o protocolo vigente do Ministério da Saúde (MS). No total, 2365 amostras de animais assintomáticos foram testadas e dessas 0,8% foram sororreagentes no teste de triagem *Dual Path Platform* (DPP®). Das amostras reagentes no DPP®, 37% foram sororreagentes no ELISA (Bio-Manguinhos®), uma foi inconclusiva (5,2%), 42% negativas e para 21% não foram feitos os testes confirmatórios. Foram realizadas entrevistas individuais com 40 médicos veterinários através da aplicação de questionário incluindo perguntas sobre o profissional (2/17), epidemiologia (6/17), diagnóstico (7/17) e eutanásia na LVC (2/17). Dos entrevistados, 42,5% acreditavam que a LV é contagiosa, 95% deles conheciam o agente etiológico, 60% conheciam o vetor e 90% o reservatório urbano. Vinte (50%) veterinários solicitariam o teste padrão-ouro (parasitológico) ao suspeitarem de um caso, e 97,5% não tinham o conhecimento de que o DPP® é um teste exclusivo da vigilância epidemiológica. Metade (20) dos inqueridos não sabia o tipo de notificação em que a doença se enquadra, e 17,5% acreditava ser obrigatório realizar a eutanásia em todos os animais positivos. Foi observado que os municípios de: Pelotas, Rio Grande e Bagé, locais de residência dos animais sororreagentes e considerados até o momento como municípios indenes, têm circulação de cães sororreagentes segundo protocolo vigente do MS e requerem atenção da vigilância epidemiológica. Diante dos resultados das entrevistas observou-se que há necessidade de atualização no assunto por parte dos

veterinários para que possam estar preparados para auxiliar na prevenção e controle da LVC.

Palavras-chave: DPP®; ELISA; Pelotas; Rio Grande; Vigilância epidemiológica

Abstract

DIAS, Tábata Pereira. **Seroepidemiology and knowledge of veterinarians for canine visceral leishmaniasis in disease-free municipalities in southern RS.** 2024. 73f. Thesis (Doctor degree in Sciences) – Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2024.

Canine visceral leishmaniasis (CVL) is a vector-borne parasitic disease that is rapidly expanding geographically, with autochthonous cases recorded in Rio Grande do Sul (RS) since 2006. Areas that are not affected by the disease, such as the municipalities of Pelotas, Rio Grande and Bagé, are not part of active epidemiological surveillance for CVL, but the region has predisposing factors for the onset of the disease. The knowledge of health professionals working in VL-endemic areas is often reported in studies as insufficient, and it is believed that the situation in areas that are not affected by the disease is even worse, which has consequences for the prevention and control of the disease. In view of the above, considering the relevance of dogs as sentinels of the presence of *Leishmania infantum* in municipalities, the expansion of VL in RS and the relevance of veterinarians as health promoters, the objectives of this study were: to conduct a seroepidemiological survey on serum samples from dogs treated at the Veterinary Clinics Hospital of the Federal University of Pelotas (HCV-UFPel), located in the municipality of Capão do Leão and a reference in the region, and to evaluate the knowledge of veterinarians working in the municipalities of Pelotas and Rio Grande do Sul about the parasitosis. The survey was carried out over a three-year period, following the current protocol of the Ministry of Health (MS). In total, 2,365 samples from asymptomatic animals were tested, and of these, 0.8% were seroreactive in the Dual Path Platform (DPP®) screening test. Of the samples that tested positive for DPP®, 37% were seroreactive in ELISA (Bio-Manguinhos®), one was inconclusive (5.2%), 42% were negative and 21% were not subject to confirmatory tests. Individual interviews were conducted with 40 veterinarians through the application of a questionnaire including questions about the professional (2/17), epidemiology (6/17), diagnosis (7/17) and euthanasia in CVL (2/17). Of those interviewed, 42.5% believed that VL is contagious, 95% of them knew the etiological agent, 60% knew the vector and 90% the urban reservoir. Twenty (50%) veterinarians would request the gold standard test (parasitological) when suspecting a case, and 97.5% were unaware that DPP® is an exclusive epidemiological surveillance test. Half (20) of the respondents did not know the type of notification that the disease falls under, and 17.5% believed that euthanasia was mandatory for all positive animals. It was observed that the municipalities of Pelotas, Rio Grande and Bagé, where the seropositive animals reside and considered to be free municipalities, have circulation of seropositive dogs according to the current protocol of the Ministry of Health and require attention from epidemiological surveillance. Given the results of the interviews, it was observed that

there is a need for veterinarians to be updated on the subject so that they can be prepared to assist in the prevention and control of CVL.

Keywords: DPP®; ELISA; Pelotas; Rio Grande; Epidemiological monitoring

Lista de Figuras

Revisão de Literatura

- Figura 1 Localização geográfica das cidades de Pelotas (A), Capão do Leão (B) e Rio Grande (C), localizadas no sul do Rio Grande do Sul, Brasil, no ano de 2024..... 18

Artigo 1

- Figura 1 Mapa do município de Pelotas-RS evidenciando a distribuição espacial geográfica conforme o local de residência dos animais testados no inquérito (n= 1670) e identificação dos diferentes resultados sorológicos encontrados nos testes..... 30

Lista de Tabelas

Artigo 1

Tabela 1	Distribuição da população total do estudo (n = 2365) quanto ao porte e ao sexo.....	31
Tabela 2	Distribuição da população total do estudo (n = 2365) quanto aos municípios.....	31
Tabela 3	Distribuição da população total do estudo (n = 2365) quanto ao município e bairro de residência.....	32

Artigo 2

Tabela 1	Dados obtidos das entrevistas com Médicos Veterinários que atuavam nos municípios de Pelotas e Rio Grande no RS, indenes para LVC sobre a epidemiologia da doença.....	48
Tabela 2	Dados obtidos das entrevistas com Médicos Veterinários que atuavam nos municípios de Pelotas e Rio Grande no RS, indenes para LVC sobre o diagnóstico da LVC.....	52
Tabela 3	Dados obtidos das entrevistas com Médicos Veterinários que atuavam nos municípios de Pelotas e Rio Grande no RS, indenes para LVC sobre eutanásia na LVC.....	55

Sumário

1 Introdução.....	12
2. Objetivos.....	14
2.1 Objetivos Gerais.....	14
2.2 Objetivos Específicos.....	14
3. Revisão da Literatura.....	15
3.1 A leishmaniose visceral no contexto do estado do Rio Grande do Sul	15
3.2. Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal de Pelotas (HCV-UFPel).....	17
3.3 Municípios de Pelotas, Rio Grande e Capão do Leão.....	18
3.4 Infecção, transmissão, manifestações clínicas e diagnóstico da LVC.	20
3.5 A importância de preparar médicos veterinários para uma possível implantação da doença.....	22
4. Artigos.....	24
4.1 Artigo 1: Inquérito soropidemiológico para pesquisa de leishmaniose visceral em cães de municípios indenes do RS no período de 2021-2024.....	24
4.2 Artigo 2: Conhecimento sobre leishmaniose visceral canina de médicos veterinários que atuam em região indene para a enfermidade no sul do Rio Grande do Sul.....	42
5. Considerações Finais.....	62
6. Referências.....	63
Anexos.....	72

1 Introdução

A leishmaniose visceral (LV) é uma zoonose de importância mundial e de difícil controle, representando um grande desafio de saúde pública na América do Sul (Figueiredo *et al.*, 2018). No Brasil, a LV encontra-se em expansão territorial e está presente nas cinco regiões do país (de Lima *et al.*, 2021). Na região sul, os primeiros casos caninos autóctones foram registrados no estado do Rio Grande do Sul (RS) em 2006, seguido de Santa Catarina, em 2010, e Paraná, em 2012 (Souza *et al.*, 2008; Steindel *et al.*, 2013; Trench *et al.*, 2016).

O agente etiológico da enfermidade na América latina é a *Leishmania infantum* e os principais vetores são o *Lutzomyia longipalpis* e o *Lutzomyia cruzi* (Brasil, 2014), embora outros flebotomíneos tenham se adaptado para a transmissão do agente (Rêgo *et al.*, 2020). O cão é o principal reservatório urbano do parasito e casos da enfermidade nessa espécie costumam preceder casos em humanos (Brasil, 2014). Os cães podem ser assintomáticos ou sintomáticos e, geralmente, os sinais clínicos são diretamente proporcionais aos níveis de anticorpos produzidos (Brasil, 2014).

A vigilância ativa pelos órgãos públicos em áreas indenes, só ocorre após a notificação de um caso suspeito aos órgãos oficiais, e por se tratar de uma enfermidade de dispersão silenciosa onde até 60% dos animais podem ser assintomáticos (Brasil, 2014), o controle da enfermidade torna-se complexo, entre outros motivos, porque os animais assintomáticos não despertam suspeita clínica nos médicos veterinários, facilitando a implantação da enfermidade em áreas que não tenham histórico de casos (Pasquali *et al.*, 2019).

Tanto impactos decorrentes de fatores ambientais como sociais, apresentam consequências para a epidemiologia da LV e favorecem a emergência e reemergência da doença, ressaltando a importância da vigilância ativa também em áreas indenes (Anjos, *et al.*, 2015). Sendo assim, os inquéritos soropidemiológicos de cães e outros animais em áreas indenes representam uma ferramenta essencial para realizar a vigilância epidemiológica ativa (Brasil, 2014), e se necessário construir um plano de contenção para a enfermidade.

A educação em saúde é uma das ferramentas mais importantes para prevenção e controle de doenças (Costa, 2021), devendo iniciar com a instrução dos profissionais que atuam na linha de frente como Médicos Veterinários, Enfermeiros, Médicos e agentes de endemias (Camplesi *et al.*, 2018). Profissionais ligados a saúde pública, direta ou indiretamente, fornecem ferramentas para a detecção e controle de doenças (Camplesi *et al.*, 2018), por isso devem ser capacitados para iniciar a investigação.

Médicos Veterinários precisam compreender seu papel dentro do contexto da saúde pública no que tange a leishmaniose visceral canina (LVC), e para isso precisam ser estimulados a realizarem a triagem de casos suspeitos. Além disso, precisam ter clareza quanto ao diagnóstico da enfermidade, do agente etiológico, da relevância da investigação epidemiológica e notificação para a compreensão da dinâmica da doença pelos órgãos oficiais, o que influencia diretamente no planejamento de ações de combate e controle (Anjos *et al.*, 2015; Cortês, 2002). Pesquisas têm evidenciado, através de questionários e entrevistas com profissionais da área da saúde incluindo Médicos Veterinários, que atuam em áreas endêmicas para LV, que o conhecimento a respeito da doença geralmente não é satisfatório (Costa, 2021; Massia, 2017), sendo assim, em áreas indenes presume-se que esse conhecimento seja ainda menor entre os profissionais.

Considerando a relevância dos inquéritos soropidemiológicos em cães na detecção precoce da LVC em áreas não endêmicas, e a importância da espécie como sentinela da instalação da enfermidade, assim como a relevância do Médico Veterinário no contexto da saúde pública, especialmente profissionais que atuam nas áreas indenes, desenvolveu-se o presente trabalho.

2 Objetivos

2.1. Objetivos Gerais

2.1.1. Avaliar a presença de cães sororreagentes para LVC no teste de triagem DPP® e quando sororreagente realizar o teste confirmatório ELISA (Bio-Manguinhos®) segundo o protocolo do Ministério da Saúde (MS), em cães atendidos no Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal de Pelotas (HCV-UFPel) e investigar o conhecimento de Médicos Veterinários que atuavam nos municípios de Pelotas-RS e Rio Grande- RS sobre a parasitose.

2.2. Objetivos Específicos

2.2.1. Realizar inquérito soroepidemiológico para LVC;

2.2.2. Avaliar a distribuição geográfica dos animais sororreagentes em Pelotas-RS e nos municípios que integraram o estudo;

2.2.3. Citar os possíveis fatores predisponentes para a enfermidade na região do inquérito;

2.2.4. Realizar entrevistas com Médicos Veterinários que atuavam em Pelotas-RS e Rio-Grande-RS, visando mensurar o conhecimento desses profissionais sobre a doença para melhor orientá-los sobre a enfermidade.

3 Revisão da Literatura

3.1 A leishmaniose visceral no contexto do estado do Rio Grande do Sul

O estado do RS passou a ser considerado área de transmissão para LV em 2006, quando foi registrado o primeiro caso canino autóctone (Souza *et al.*, 2008) e detectada a presença de *Lu. Longipalpis* no município de São Borja (Azevedo *et al.*, 2009), situado na fronteira com a Argentina, próximo a província de Misiones que teve em 2006 os primeiros casos autóctones de LV do país e a detecção da presença do vetor *Lu.longipalpis* (Salomón *et al.*, 2012).

O primeiro estudo referente a possível presença de *Leishmania* spp. no RS ocorreu no final da década de 90 (Pocai *et al.*, 1998), sendo relatados cinco prováveis casos de LVC em Santa Maria, através de exame histopatológico e imunohistoquímico no tecido de cães necropsiados oriundos de cidades vizinhas, buscando-se visualizar formas amastigotas do parasito. Entretanto, Marcondes e colaboradores (2003) ao estudarem 204 cães do mesmo município, utilizando a técnica Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) buscando anticorpos anti-*leishmania* encontraram todas as amostras negativas, não corroborando com os resultados positivos anteriores (Pocai *et al.*, 1998). Posteriormente, utilizando a técnica de imuno-histoquímica, as amostras de Pocai *et al.*, (1998) foram reavaliadas por Monteiro *et al.*, (2010), sendo negativas para *Leishmania* spp. Portanto, corroborando com o diagnóstico realizado por Marcondes *et al.*, (2003).

A partir das pesquisas iniciais, casos alóctones esporádicos de LVC foram diagnosticados no RS, servindo de alerta para regiões do estado, uma vez que o trânsito de pessoas e animais infectados de áreas endêmicas são relevantes do ponto de vista epidemiológico, possibilitando a circulação do parasito nas regiões (Brasil, 2014; Pasquali *et al.*, 2019). Segundo dados do Centro Estadual de Vigilância em Saúde (CEVS) da Secretaria da Saúde do Estado do Rio Grande do Sul (SES/RS), publicados através da nota informativa DVE/CEVS nº 14/23, até o ano de 2022 havia notificação de casos autóctones de LV humana (LVH) registrados nos municípios de

Porto Alegre, São Borja, Uruguaiana, Viamão, Itaqui e Santa Maria e segundo o “Planejamento Regional Integrado” da 4ª e 10ª Coordenadorias Regionais de Saúde do RS publicado no mesmo ano, os municípios de Barra do Quaraí (área de transmissão), Cacequi (área de transmissão desde 2018), Santana do Livramento (considerado área de transmissão, com casos em cães, mas sem detecção do vetor *Lu. longipalpis*) e Santa Cruz do Sul apresentaram casos caninos (CEVS, 2022).

O RS, até o momento, tem um padrão de transmissão da doença distinto do predominante no país. O vetor *Lu. longipalpis* segundo Rêgo *et al.*, (2020), parece estar restrito a municípios da região oeste do estado, onde essa espécie de flebotomíneo também é encontrada em municípios sem casos caninos ou humanos registrados, cidades estas estratificadas como vulneráveis e receptivas, sendo elas: Garruchos, Pirapó, Porto Lucena e Porto Xavier. Na região leste do estado, nos municípios de Porto Alegre, Viamão e em Santa Cruz do Sul, na parte central, a vigilância entomológica não detectou a presença de *Lu. longipalpis* nos focos de transmissão investigados (CEVS, 2022). Foram notificados casos de LVC desde 2009 na cidade de Santa Cruz do Sul, porém o município só passou a ser considerado, oficialmente, área de transmissão em 2014, após o isolamento e a identificação do agente etiológico a partir de amostras de pele e medula de cães soropositivos (Born, 2022).

São considerados vulneráveis, aqueles municípios que são contíguos às áreas de transmissão, ou que apresentam fluxo migratório intenso com as áreas de transmissão, assim como aqueles que integram o mesmo eixo rodoviário (Brasil, 2014). Diante do exposto, verifica-se que existem municípios considerados vulneráveis à LV no RS (CEVS, 2023) incluindo Pelotas e Rio Grande, que contam com intenso fluxo migratório pelo turismo e presença de pólos universitários federais, sendo que Rio Grande conta ainda com um pólo naval motivando a imigração de muitos trabalhadores de todas as partes do Brasil para a cidade. Pelotas integra o mesmo eixo viário com Porto Alegre e Santa Maria, cidades consideradas endêmicas para a doença, enquanto Rio Grande pertence também ao mesmo eixo rodoviário de Santa Maria. Portanto, esses municípios são considerados áreas vulneráveis para a enfermidade segundo o “Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral” (Brasil, 2014) e apresentam risco para a implantação da doença.

A introdução da LV no sul do Brasil é um evento multifatorial, que ocorreu quase simultaneamente e se espalhou rapidamente para diferentes áreas, indicando uma adaptação do parasito e de vetores as condições locais. Desta forma, é urgente o levantamento entomológico e soropidemiológico atualizado, não só em áreas de transmissão ativa mas também para áreas indenes, a fim de verificar a existência de espécies de flebotomíneos com capacidade vetorial, bem como a presença de cães sororreagentes mesmo que sejam de casos alóctones. O valor epidemiológico do diagnóstico e mapeamento de animais infectados ou doentes, reside em antecipar a adoção de medidas preventivas e possibilitar o preparo dos profissionais da saúde para a instalação da doença.

3.2. Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal de Pelotas (HCV-UFPeI)

O HCV-UFPeI era um hospital escola e contava com atendimento médico veterinário de profissionais especializados tornando-se referência na região. Estava localizado na Avenida Eliseu Maciel S/N, Jardim América, na cidade de Capão do Leão, RS, município vizinho a Pelotas. O HCV oferecia atendimento para animais de companhia, animais de grande porte e animais silvestres. No que tange aos serviços para animais de companhia disponibilizava: consultas clínicas, intervenções cirúrgicas, exames de imagem e laboratoriais, bem como estrutura para internação de cães e gatos. A equipe era composta por residentes das áreas de: clínica médica, clínica cirúrgica, anestesiologia, imagem e patologia além de técnicos veterinários e docentes universitários.

Os animais atendidos no local eram tanto de tutores com pouco poder aquisitivo, incluindo aqueles que viviam em comunidades em vulnerabilidade social incluídas em um projeto de extensão da universidade, que oferecia atendimento e demais procedimentos para os animais quanto aqueles de maior poder aquisitivo, sendo geralmente tutores que buscavam atendimento especializado, muitas vezes deslocando-se de municípios vizinhos, uma vez que o HCV-UFPeI era de referência para a região.

3.3. Municípios de Pelotas, Rio Grande e Capão do Leão

As cidades de Pelotas, Rio Grande e Capão do Leão são localizadas no sul do Rio Grande do Sul (Figura 1), na mesorregião Sudeste Rio-grandense. Os três municípios juntos contam com uma população de 544.072 habitantes (IBGE, 2022) e com fatores que os incluem entre as áreas vulneráveis para a ocorrência de LV (Brasil, 2014; CEVS, 2022).

Figura 1 - Localização geográfica das cidades de Pelotas (A), Capão do Leão (B) e Rio Grande (C), localizadas no sul do Rio Grande do Sul, Brasil, no ano de 2024



Fonte: Dias, 2024, p. 18.

O município de Pelotas também conhecido como “Princesa do Sul”, é considerado uma das capitais regionais do Brasil e de acordo com o último censo, conta com uma população de aproximadamente 325.685 habitantes. O clima da cidade é classificado como subtropical úmido, e ela caracteriza-se por apresentar verões quentes (34° a 36°C) e úmidos. As altas temperaturas durante o verão tornam a região propícia para a ocorrência de flebotomíneos, agentes transmissores da leishmaniose. A cidade de Pelotas apresenta uma fauna local rica, composta por diversas espécies de mamíferos, entre eles: graxaim, raposa e mamíferos marsupiais, que são considerados reservatórios silvestres do protozoário *Leishmania* spp. em áreas endêmicas (Prefeitura de Pelotas, 2024).

Quanto ao Capão do Leão, este é um pequeno município do RS, vizinho de Pelotas e Rio Grande, que conta com uma população de 26.487 habitantes (IBGE, 2022). Tem o mesmo clima de Pelotas e apresenta grande similaridade também na sua fauna e flora, sendo potencial *habitat* de mamíferos silvestres reservatórios do protozoário e do seu vetor (IBGE, 2022).

Com uma população de 191.900 habitantes o município de Rio Grande, localizado no litoral, tem o bioma Pampa em contato íntimo com o sistema costeiro-marinho e apresenta muitas semelhanças com as cidades de Pelotas e Capão do leão, sendo por isso considerada também uma área vulnerável. É uma cidade de clima subtropical (temperado) e possui grandes variações térmicas ao longo do ano, apresentando verões quentes (INMET). Assim como Pelotas, Rio Grande tem variedade de animais silvestres, podendo abrigar nestes reservatórios o parasito *Leishmania* spp. (Brasil, 2014).

Como cidades universitárias, Pelotas e Rio Grande apresentam pólos universitários federais (UFPel, IFSUL, FURG) e diversos outros particulares (UCPel, Anhanguera, etc), contando com uma grande migração de graduandos e pós-graduandos que chegam para estudar na região, e que transitam entre Pelotas, Rio Grande e suas cidades de origem durante o período de estudos. Ainda, por serem cidades históricas e turísticas, contam com um grande fluxo anual de visitantes (Prefeitura de Pelotas, 2024; Prefeitura de Rio Grande, 2024). Esses movimentos migratórios constantes acabam tornando as cidades descritas como possíveis áreas vulneráveis para a ocorrência de casos de LV (Brasil, 2014; Dias, 2021). Além dos movimentos migratórios, as cidades de Rio Grande e, principalmente Pelotas, têm conexão rodoviária com diversos centros classificados como áreas de transmissão da leishmaniose com registro de casos humanos, a exemplo de Porto Alegre e Santa Maria no RS (Brasil, 2014; CEVS, 2022), outro fator de risco. O porto de Rio Grande também favorece intenso fluxo migratório de pessoas para a região, incluindo trabalhadores do estaleiro e empresários de várias partes do Brasil.

3.4 Infecção, transmissão, manifestações clínicas e diagnóstico da LVC

A principal forma de transmissão de LVC é vetorial e ocorre durante o repasto sanguíneo de flebotomíneos. Trata-se de um ciclo epidemiológico digenético (heteroxênico), alternando-se entre hospedeiros vertebrados e invertebrados (Brasil, 2014). Durante o ciclo de vida os parasitos apresentam duas morfologias principais: amastigota dentro da célula do hospedeiro vertebrado e promastigota, encontrada nos insetos vetores (Brasil, 2014).

Formas promastigotas metacíclicas infectantes são introduzidas na epiderme dos cães durante o repasto sanguíneo das fêmeas de flebotomíneos (Killick-Kendrick, 1990) e são fagocitadas por células do sistema mononuclear fagocítico (SMF), transformando-se em amastigotas intracelulares. Na sequência, caso o animal tenha uma forte resposta imunológica dos linfócitos T (do tipo Th1), este pode ter a resolução da infecção, o que é muito raro de ocorrer, ou então pode permanecer assintomático, o que é mais comum de ocorrer. No entanto, caso o animal apresente uma resposta linfocitária do tipo Th2, ele desenvolverá a doença, ou seja, manifestará sinais clínicos da LVC (Giunchett *et al.*, 2008) decorrentes principalmente da deposição de imunocomplexos em diferentes tecidos (Ribeiro *et al.*, 2019).

A LVC é descrita como uma doença crônica e multisistêmica, afetando vários órgãos (Baneth *et al.*, 2008; Ribeiro *et al.*, 2019). Os cães susceptíveis, após a infecção da pele terão a disseminação do parasito por todo o organismo com posterior desenvolvimento dos sinais clínicos que podem ocorrer na forma visceral ou sistêmica, e um grande número de animais é acometido por alguma alteração cutânea (Brasil, 2014).

Entre os sinais clínicos mais comuns observados nos cães estão as dermatites com lesões crostosas e ulcerativas, comumente, nas pontas de orelha e nariz por serem locais de fácil acesso do flebotomíneo, linfadenopatia, hepatoesplenomegalia, onicogribose, além de apatia, edema de patas, hiperqueratose, alterações oftálmicas, digestivas e renais, perda progressiva de peso e epistaxe (Marcondes & Rossi, 2013; MS, 2014; Paltrinieri *et al.*, 2010).

Os métodos parasitológicos representam o padrão-ouro de diagnóstico (citologia e cultura *in vitro*) para a LVC, e têm como finalidade detectar formas amastigotas através da biópsia por aspiração com agulha fina (CAAF) da medula óssea e linfonodos, por exemplo (Solano-Gallego *et al.*, 2009). Embora seja

considerado padrão ouro, o teste parasitológico apesar da alta especificidade pode perder sensibilidade dependendo da carga parasitária do animal, bem como do treinamento do profissional para realizar a leitura do teste (Brasil, 2014). Assim, diante da resposta sorológica observada na LVC resultando em hipergamaglobulinemia, o uso de técnicas imunológicas para detecção de anticorpos anti-*Leishmania* é bastante disseminado (Figueiredo *et al.*, 2018; Ribeiro *et al.*, 2019; Werneck *et al.*, 2014).

O teste sorológico imunocromatográfico *Dual Path Platform* (DPP®) produzido pela Bio-Manguinhos®, é utilizado para a triagem de cães suspeitos de LVC no Brasil em inquéritos sorológicos da doença desde 2011, segundo a nota técnica do MS nº 01/2011 (CGDT-CGLAB/DEVIT/SUS/MS). Se, durante a investigação forem detectados animais soropositivos no DPP®, é realizado o teste sorológico *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA), também produzido pela Bio-Manguinhos®, como teste confirmatório. O ELISA trata-se de um teste qualitativo que utiliza o antígeno bruto de *L. major* apresentando sensibilidade e especificidade que variam entre 71 a 100% e 85 e 100%, respectivamente. Esses testes não estão disponíveis comercialmente e são restritos para uso governamental (Dias *et al.*, 2022).

Nas clínicas veterinárias, os profissionais dispõem de outros testes sorológicos comerciais, que incluem testes rápidos de diversas marcas e antígenos, diferentes daqueles utilizados nos testes da vigilância epidemiológica do país, assim como estão disponíveis testes que utilizam outras metodologias e podem ser solicitados aos laboratórios particulares, como PCR, por exemplo. O DPP® consiste em um dispositivo impregnado com o antígeno recombinante rK28 (uma quimera que combina os antígenos K9, K26 e K39) de *L. infantum* e detecta imunoglobulinas específicas anti-*L. infantum* em soro, sangue ou plasma. Apresenta sensibilidade de 100% e especificidade de 87,5% a 91,7%, quando comparado ao resultado do teste padrão ouro (parasitológico). No entanto, a sensibilidade e especificidade do teste diminui em áreas endêmicas, variando, respectivamente conforme consta nas informações técnicas do teste.

Reações cruzadas com outros parasitos nos testes sorológicos podem ocorrer, principalmente quando se utiliza antígenos brutos, porque eles diminuem a especificidade do mesmo (Ikeda-Garcia *et al.*, 2007). Foi descrita a reação cruzada entre *L. infantum* e *Babesia canis vogeli* em 44% (4/9) das amostras de soro testadas por Laurenti *et al.*, (2014) e segundo os autores, não se trata de uma porcentagem desprezível, embora os mesmos enfatizem que em comparação com outros testes

sorológicos realizados no seu trabalho, o DPP® foi o que apresentou menor reatividade cruzada. Devido aos desafios expostos quanto ao diagnóstico da LVC, Grimaldi *et al.*, (2012) sugerem o uso simultâneo de múltiplos antígenos recombinantes com imunorreatividades complementares para aumentar a sensibilidade dos testes, uma vez que os antígenos são reconhecidos de maneiras diferentes em diferentes estágios da doença.

Os animais sem sinais clínicos e positivos para LVC representam, em áreas endêmicas, de 15 a 60% a depender do teste de diagnóstico empregado (sorológico ou molecular) (Coura-Vital *et al.*, 2011; Solano-Gallego *et al.*, 2009) e são um desafio para as autoridades sanitárias e comunidade científica, uma vez que, embora em menor proporção, esses animais apresentam parasitismo cutâneo, baixos títulos de anticorpos e podem ter taxa alta de transmissão aos vetores, o que acarreta no favorecimento da disseminação do parasito e na dificuldade de controle da doença (Baneth *et al.*, 2008; Laurenti *et al.*, 2013; Marzochi *et al.*, 1985).

3.5 A importância de preparar médicos veterinários para uma possível implantação da doença

A implementação das atividades de Saúde Pública trouxe entre as atribuições para os Médicos Veterinários o controle de zoonoses, higiene dos alimentos, trabalhos laboratoriais, biologia e atividades experimentais. Desde então, esse profissional atua de forma integrada nas equipes de Vigilância Epidemiológica, Sanitária e Ambiental. Dentro do contexto de Saúde Única os Médicos Veterinários podem contribuir como promotores da saúde desempenhando função importante no diagnóstico, prevenção e controle das doenças. Esses profissionais são, muitas vezes, os primeiros a detectar os casos de LV, e como agentes de saúde pública podem contribuir inclusive no que se refere a instrução da população sobre o assunto.

Devido aos conhecimentos generalistas que incluem a biologia e epidemiologia das zoonoses Médicos Veterinários são fundamentais para o planejamento, execução e avaliação de programas de prevenção, controle ou erradicação que venha a ser adotado frente a enfermidade (Anjos *et al.*, 2014). Todavia, esses profissionais precisam reconhecer a sua importância dentro desse contexto, incluindo ações de identificação, diagnóstico e compreensão de como a doença ocorre e a relevância da

notificação compulsória da enfermidade quando houver a suspeita, para que desse modo possam confluir com as ações realizadas pela Vigilância Epidemiológica.

Faz parte do papel do Médico Veterinário promover o bem estar animal e a saúde pública, assim como orientar os tutores dos animais que atendem, quanto à prevenção da LVC e do risco de um cão infectado para os outros animais, para a família e para a comunidade. Assim como também é responsabilidade desse profissional o acompanhamento dos animais submetidos ao tratamento contra a enfermidade.

Diante da gravidade dessa zoonose e da percepção de que os profissionais que atuam em áreas indenes e se graduaram em regiões onde a LV não é endêmica, têm mais chances de desconhecem os aspectos relacionados a enfermidade, por esta não estar presente na rotina clínica (Brasil, 2014) acredita-se que mensurar o conhecimento desses profissionais, quando ainda não há casos autóctones na região de atuação, favoreça um planejamento mais assertivo para ações educativas dessa classe.

4 Artigos

4.1 Artigo 1

Seroepidemiological survey for visceral leishmaniasis in dogs from an unaffected municipality of RS in the period 2021-2024

Tábata Pereira Dias; Fabiano Borges Figueiredo; Gustavo Gonçalves; Vitória Ramos de Freitas; Maria Eduarda Rodrigues; Francesca Lopes Zibetti; Marlete Brum Cleff

Aceito para publicação na revista Concilium

Seroepidemiological survey for visceral leishmaniasis in dogs from an unaffected municipality of RS in the period 2021-2024

Inquérito soroepidemiológico para pesquisa de leishmaniose visceral em cães de municípios indenes do RS no período de 2021-2024

Received: 00-00-2024 | Accepted: 00-00-2024 | Published: 00-00-2024

Tábata Pereira Dias

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3537-5374>

Universidade Federal de Pelotas, Brasil

E-mail: tabata_pd@yahoo.com.br

CPF: 826.974.340-20

Fabiano Borges Figueiredo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6861-0997>

Instituto Carlos Chagas - Fiocruz, Brasil

E-mail: fabiano.figueiredo@fiocruz.br

Gustavo Gonçalves

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4670-9256>

Instituto Carlos Chagas - Fiocruz, Brasil

E-mail: gustavogonsalves@live.com

Vitória Ramos de Freitas

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6725-6789>

Universidade Federal de Pelotas, Brasil

E-mail: vitoriabars@hotmail.com

Maria Eduarda Rodrigues

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2482-8107>

Universidade Federal de Pelotas, Brasil

E-mail: eduarda.rodrigueset@gmail.com

Francesca Lopes Zibetti

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9282-3762>

Universidade Federal de Pelotas, Brasil

E-mail: franz134@yahoo.com.br

Marlete Brum Cleff

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9082-5185>

Universidade Federal de Pelotas, Brasil

E-mail: marletecleff@gmail.com

ABSTRACT

Canine visceral leishmaniasis (CVL) is a vector-borne parasitic disease that is expanding geographically, with autochthonous cases recorded in Rio Grande do Sul (RS) since 2008. Indigenous areas such as the municipalities of Pelotas, Rio Grande and Bagé are not part of active epidemiological surveillance for CVL, but the region has predisposing factors for the spread of the disease. The aim of this study was therefore to carry out a seroepidemiological survey of serum samples from dogs treated at a veterinary hospital in a disease-free area. The survey took place over a three-year period, following the current Ministry of Health (MoH) protocol. A total of 2,365 samples from asymptomatic animals were tested, of which 0.8% were seroreactive in the Dual Path Platform (DPP®) screening test. Of the samples that reacted to the DPP®, 37% were seroreactive to the ELISA (Bio-Manguinhos®), one was inconclusive (5.2%), 42% were negative and in 21% no confirmatory test was carried out. It can be concluded that Pelotas, Rio Grande and Bagé, the places of residence of seroreagent animals and

CVL-free municipalities, have seroreagent dogs circulating according to the current MH protocol and require attention from epidemiological surveillance.

Keywords: CVL; DPP®; ELISA; Bio-Manguinhos®; Asymptomatic;

RESUMO

A leishmaniose visceral canina (LVC) é uma doença parasitária vetorial que está em franca expansão geográfica com registro de casos autóctones no Rio Grande do Sul (RS) desde 2008. Áreas indenes, como o município de Pelotas, Rio Grande e Bagé não fazem parte da vigilância epidemiológica ativa para LVC, mas a região conta com fatores predisponentes para a implantação da doença. Assim, foi objetivo desse trabalho realizar inquérito soroprevalencial em amostras de soro de cães atendidos em hospital veterinário de área indene. O inquérito ocorreu no período de três anos, seguindo-se o protocolo vigente do Ministério da Saúde (MS). No total, 2365 amostras de animais assintomáticos foram testadas e dessas 0,8% foram sororreagentes no teste de triagem *Dual Path Platform* (DPP®). Das amostras reagentes no DPP®, 37% foram sororreagentes no ELISA (Bio-Manguinhos®), uma foi inconclusiva (5,2%), 42% negativas e em 21% não foi realizado o teste confirmatório. Conclui-se que Pelotas, Rio Grande e Bagé, locais de residência dos animais sororreagentes e municípios indenes para LVC, têm circulação de cães sororreagentes segundo protocolo vigente do MS e requerem atenção da vigilância epidemiológica.

Palavras-chave: LVC; DPP®; ELISA; Bio-Manguinhos®; Assintomático;

INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral (LV) é uma doença tropical negligenciada causada pelo protozoário *Leishmania infantum* e transmitida por flebotomíneos do gênero *Lutzomyia* nas Américas (BRASIL, 2014). Os cães domésticos constituem o principal reservatório do parasita nas áreas urbanas, desempenhando o papel de amplificadores da infecção e contribuindo para a transmissão humana, uma vez que, geralmente, casos caninos precedem casos humanos (BRASIL, 2014). A partir da década de 1990, houve aumento no número de casos de LV no Brasil e expansão da distribuição geográfica da enfermidade para diferentes regiões brasileiras, caracterizando um novo padrão epidemiológico (WERNECK, 2014). No entanto, o RS foi considerado indene para a LV até 2006, quando foi notificado o primeiro caso autóctone de leishmaniose visceral canina (LVC) em São Borja (MS, 2010).

A dispersão do vetor e o trânsito de pessoas e animais infectados provenientes da Argentina foi a explicação mais plausível para a chegada da LV ao estado (SALOMÓN *et al.*, 2011). Isso pode ter ocorrido pela introdução de *Lutzomyia longipalpis* pelas cidades da fronteira com o RS (MONTEIRO *et al.*, 2010), uma vez que animais sororreagentes foram notificados em cidades fronteiriças como São Borja/São Tomé e Uruguaiana/Paso de los Libres previamente (SALOMÓN *et al.*, 2008). Seis municípios do RS registraram casos de LV humana (LVH) segundo a nota informativa DVE/CEVS nº 14/2023 (CEVS-RS, 2023), entre eles: São Borja, Itaqui, Uruguaiana, Santa Maria, Porto Alegre e Viamão. Segundo informações produzidas pelo Centro Estadual de Vigilância em Saúde (2022), a transmissão em caninos ocorre em 12 municípios do estado e muitos desses municípios também registraram a presença do vetor *Lu. longipalpis*.

Apesar de ser uma doença de notificação compulsória (BRASIL, 2014) os dados sobre LVC não são coletados sistematicamente no país como ocorre com os dados de LVH (DIAS *et al.*, 2022), o que representa um dos desafios encontrados no controle epidemiológico da enfermidade no Brasil (WERNECK *et al.*, 2024). Ainda assim, inquéritos sorológicos periódicos em municípios considerados endêmicos para efeitos de vigilância são realizados. Porém, em áreas consideradas indenas como os municípios de Pelotas, Rio Grande e Bagé no estado do RS esse inquérito somente é realizado após a notificação de um caso suspeito, por falta de insumos e recursos humanos para o processo, bem como a priorização de demandas correspondentes a outras enfermidades endêmicas locais (DIAS *et al.*, 2022).

Em virtude do processo de expansão da LV para a região sul do Brasil, com registros de casos autóctones em municípios próximos a Pelotas e região, como Porto Alegre (CEVS-RS, 2022), assim como no país de fronteira Uruguai (SALOMÓN *et al.*, 2008). E diante das

dificuldades operacionais de vigilância epidemiológica em áreas consideradas indenes, objetivou-se realizar inquérito soropidemiológico canino segundo a nota técnica vigente (BRASIL, 2011), avaliar a distribuição geográfica dos animais sororreagentes em Pelotas e nos municípios que integraram o estudo, assim como analisar os possíveis fatores predisponentes à enfermidade na região.

METODOLOGIA

Foram testadas amostras de soro de cães provenientes da rotina de atendimento do Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal de Pelotas (HCV-UFPel) no período de janeiro de 2021 a janeiro de 2024. Todas as amostras foram processadas no Laboratório de Patologia Clínica da UFPel com a técnica de centrifugação para separação do soro (THRALL, 2007), sendo centrifugado a 4.000 rpm e armazenado a -20°C . Os soros foram analisados através do teste rápido imunocromatográfico de triagem *Dual Path Platform* - DPP® (Bio-Manguinhos®), cedido pelo Instituto Carlos Chagas (ICC) da Fiocruz, conforme instruções do fabricante. As amostras consideradas sororreagentes no DPP® foram encaminhadas para o ICC-Fiocruz para realizar o teste confirmatório ELISA (Bio-Manguinhos®) seguindo o protocolo vigente para LVC no Brasil determinado na nota técnica n° 1 de 2011 (CGDT CGLAB/DEVIT/SVS/MS) (BRASIL, 2011).

O número de amostras previstas para serem avaliadas no estudo foi calculado por meio da calculadora epidemiológica EpiTools® (SERGEANT, 2018), considerando sensibilidade de 89% e especificidade de 70% do DPP® para animais assintomáticos descrito na bula do teste. A prevalência foi de 2%, conforme recomenda o “Manual de Vigilância e Controle da LV” (BRASIL, 2014) para realizar inquéritos soropidemiológicos em áreas onde a prevalência ainda não foi descrita, totalizando 400 amostras. No entanto, foi possível ampliar o número amostral, devido à parceria com o HCV-UFPel, local de referência na região que conta com especialistas e por tratar-se de uma amostragem por conveniência.

Todas as amostras foram investigadas através de uma análise retrospectiva a partir do histórico clínico-epidemiológico para as variáveis: sexo, raça, porte (KLAUSNER, 2013), fase de desenvolvimento (FORTNEY, 2012), município e bairro de residência quando possível. Quanto à variável bairro, para o município de Pelotas-RS foi criada uma classificação denominada “Prefeitura” para os animais resgatados pelo órgão municipal e encaminhados para o HCV-UFPel uma vez que não havia identificação precisa do bairro em que os animais eram

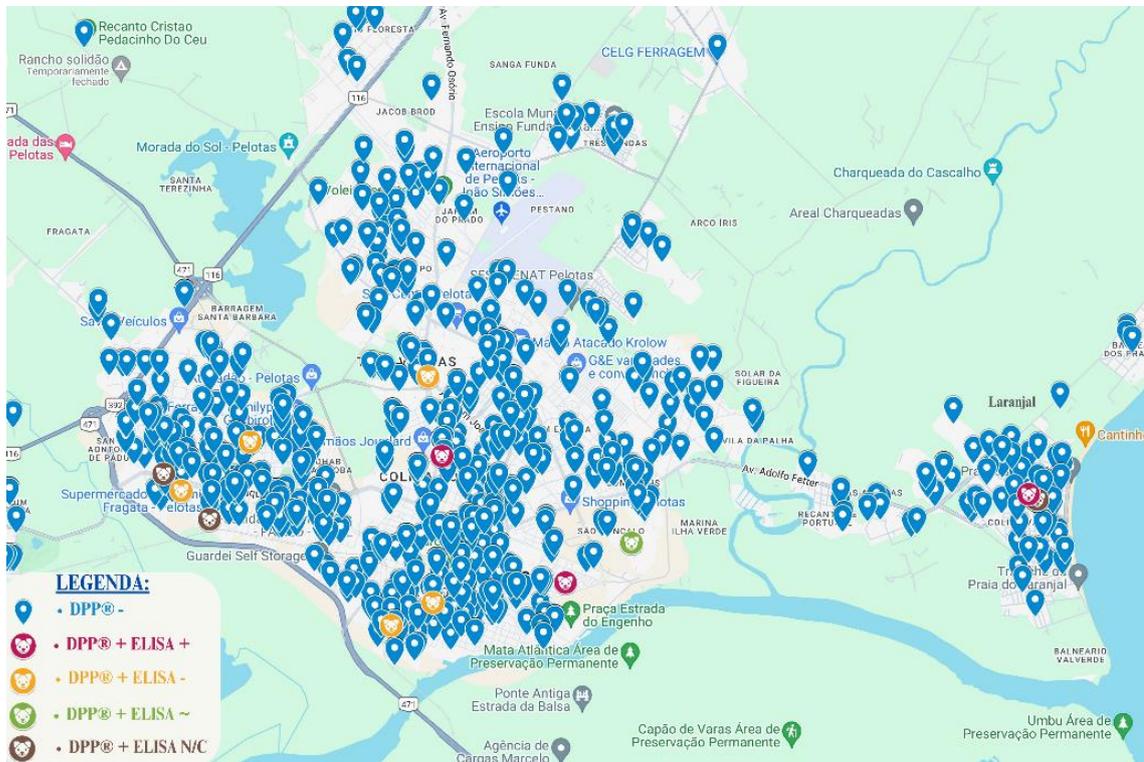
recolhidos e em virtude de ser um número de amostras importante para o trabalho. Os testes foram tabelados em planilha eletrônica do Excel® para posterior análise descritiva.

RESULTADOS

Foram testadas 2365 amostras de soros de cães atendidos no HCV-UFPel no período de janeiro de 2021 a janeiro de 2024 segundo o protocolo do MS (BRASIL, 2011). O hospital universitário é referência na região estudada e conta com diversas especialidades, sendo inclusive encaminhados para atendimento animais com histórico complexo de investigação médica precedente pela qualidade do serviço prestado. Os pacientes atendidos no HCV-UFPel não tinham suspeita de LVC. Foram sororreagentes no teste de triagem (DPP®) 0.8% (19/2365) das amostras. Dessas, também foram sororreagentes no teste confirmatório ELISA (Bio-Manguinhos®) 37% (7/19) das amostras, 5,2% (1/19) foi inconclusiva, 42% (8/19) negativas e para 21% (4/19) das amostras não foi possível realizar o teste de ELISA. Os animais sororreagentes em ambos os testes residiam nos municípios de Pelotas (4), Rio Grande (1), Bagé (1), São Borja (1). Àqueles que não residiam em Pelotas estavam na cidade a passeio e alguns visitavam o município com frequência.

Na Figura 1 pode ser visualizada a dispersão quanto ao local de residência de todos os animais que foram testados para LVC no município de Pelotas, podendo ser verificada a distribuição dos cães que: não foram sororreagentes no DPP® (ícone na cor azul); foram sororreagentes no DPP® e negativos no ELISA (ícone na cor amarela); sororreagentes no DPP® e ELISA (ícone na cor rosa); sororreagentes no DPP® e inconclusivo no ELISA (ícone na cor verde); sororreagentes no DPP® e sem dados para o ELISA (ícone na cor marrom).

Figura 1 – Mapa do município de Pelotas-RS evidenciando a distribuição espacial geográfica conforme o local de residência dos animais testados no inquérito (n= 1670) e identificação dos diferentes resultados sorológicos encontrados nos testes.



Fonte: Dias et al (2024, p. 5)

Os animais que moravam em Pelotas e foram considerados infectados (4/19) - ícone rosa, residiam nos bairros: Centro (2), Areal (1) e Laranjal (1). Pelotas também teve um animal com resultado inconclusivo no ELISA (ícone verde) que residia no bairro Areal. Nos municípios de Rio Grande (1), Bagé (1) e São Borja (1) também foram identificados animais infectados, mas para eles as informações quanto ao bairro de residência não estavam disponíveis.

Entre os cães considerados infectados em Pelotas (4/19) todos eram fêmeas, três tinham raça, sendo elas: *Yorkshire Terrier* (n=2) e *Bulldogue Francês* (n=1) e um era SRD. Dois desses animais residiam no bairro Centro (sendo que uma delas permanecia em Pelotas por temporadas e tinha nascido em Uruguaiana-RS). Um animal (*Bulldogue Francês*) residia no bairro Areal e foi comprado ainda filhote em um canil localizado no município de Osório-RS. O animal SRD morava há cinco anos em Pelotas no bairro Laranjal mas era proveniente do Nordeste. Os outros animais considerados infectados (3/19) estavam em Pelotas a passeio e residiam nos municípios de São Borja (1), Bagé (1) e Rio Grande (1) sendo este proveniente do município de Itaqui.

Do total de cães incluídos no estudo (2365) eram machos 46% (1092/2365) e 54% (1273/2365) eram fêmeas. Verificou-se a predominância de cães de porte médio com 35%

(819/2365) e porte grande com 29% (693/2365). A maioria dos animais eram *seniors*, o que representou 39% (930/2365) dos cães (Tabela 1). Também foi maioria os animais SRD correspondendo a 60% (1413/2365), e 40% (952/2365) eram cães de raça, destacando-se as raças *Shih-tzu* e *American Pitbull Terrier* com 5,6% e 4%, respectivamente.

Tabela 1 - Distribuição da população total do estudo (n=2365) quanto ao porte e ao sexo

Idade	Porte				Não consta
	Extragrande	Grand e	Médi o	Pequen o	
Jovem	2	52	132	90	5
Adulto	9	80	175	152	21
Idoso	8	142	208	114	10
Sênior	38	380	256	239	17
Não Informado	7	39	48	36	105
Total	64	693	819	631	158

Fonte: Dias, et al (2024, p5)

Quanto à localidade, a maioria das amostras testadas foram provenientes de animais que residiam nos municípios de Pelotas (70,6%), Rio Grande (11,7%) e Capão do Leão (9,8%) (Tabela 3). Em Pelotas os bairros com maior número de animais testados foram: Centro (22,5%), Fragata (19,6%) Prefeitura de Pelotas (17%) e Três Vendas (14%) conforme pode ser visualizado na Tabela 2. Em Rio Grande, a maioria dos cães residiam no bairro Balneário Cassino (28,5%) seguido do Centro (24,5%) e no município de Capão do Leão os cães eram na maioria residentes do bairro Jardim América (71%) (Tabela 3).

Tabela 2 - Distribuição da população total do estudo (n=2365) quanto aos municípios

Municípios	Nº	%
	167	
Pelotas	0	70,6
Rio Grande	277	11,7
Capão do Leão	231	9,8
Ecosul	78	3,3
São Lourenço do Sul	31	1,3
Outros	78	3,3
	236	
Total	5	100%

Fonte: Dias, et al (2024, p7)

Tabela 3 - Distribuição da população total do estudo (n=2365) quanto ao município e bairro de residência

Pelotas			Rio Grande			Capão do Leão		
Bairro	Nº	%	Bairro	Nº	%	Bairro	Nº	%
Centro	376	22,5	Balneário Cassino	79	28,5	Jardim América	164	71,0
Fragata	328	19,6	Centro	68	24,5	Centro	27	11,7
Prefeitura	288	17,2	Cidade Nova	19	6,9	Palma	18	7,8
Três			Parque Res. São			Cerro do		
Vendas	238	14,3	Pedro	15	5,4	Estado	13	5,6
			Miguel de Castro					
Areal	173	10,4	Moreira	11	4,0	Outros	9	3,9
Laranjal	130	7,8	Parque Marinha	11	4,0			
Porto	89	5,3	Outros	74	26,7			
Outros	48	2,9						
	167	100		27				100
	0	%		7	100%		231	%

Fonte: Dias, et al (2024, p7)

DISCUSSÃO

O diagnóstico padrão-ouro da LVC é o exame parasitológico, no entanto, apesar de ser muito específico ele perde em sensibilidade por depender do treinamento do profissional para a identificação das formas amastigotas na amostra assim como da carga parasitária do animal (BRASIL, 2014). A praticidade logística no diagnóstico da LVC requer uma ferramenta que apresente alta sensibilidade e especificidade além de um resultado rápido e eficaz (BRASIL, 2014). Nesse contexto, o diagnóstico sorológico se mostrou uma ferramenta eficiente, baseando-se na resposta humoral que ocorre na doença, com níveis elevados de imunoglobulinas IgG anti-*Leishmania* no soro dos cães o que é mais frequente em animais sintomáticos (TRAVI *et al.*, 2018; MAIA & CAMPINO, 2008).

Na população desse estudo 0,8% (19/2365) das amostras foram sororreagentes no teste de triagem DPP® sendo todos os animais assintomáticos e sem suspeita clínica de LVC. A partir de 2011 de acordo com a nota técnica vigente (BRASIL, 2011) o diagnóstico de LVC é realizado a partir do teste sorológico qualitativo e imunocromatográfico *Dual Path Platform* (DPP®) para a triagem dos animais com a proteína quimérica rK28 e o teste imunoenzimático qualitativo ELISA que utiliza o antígeno bruto de *L. major*, como confirmatório, ambos produzidos pela Bio-Manguinhos®.

Alguns autores sugerem a inversão da ordem do protocolo, sugerindo o ELISA para triagem e o DPP® como confirmatório devido à alta especificidade e valor preditivo positivo (VPP) do DPP® (DA SILVA *et al.*, 2013; LAURENTI *et al.*, 2014). Porém os parâmetros de

VPP (probabilidade de um indivíduo com resultado positivo no teste estar realmente doente) assim como valor preditivo negativo (probabilidade de um indivíduo com resultado negativo no teste estar realmente hígido) e acurácia são variáveis sendo dependentes da prevalência da doença de determinada região (KAWAMURA, 2002), sendo assim, em locais com baixa prevalência de LVC o VPP diminui e o VPN aumenta. Outros pesquisadores defendem ainda que o diagnóstico da LVC deveria ser realizado com testes em paralelo, ou seja, ao testar uma amostra com dois testes de maneira concomitante e uma delas for positiva, o animal seria considerado doente (DE BLAS et al., 2000), favorecendo o aumento da sensibilidade combinada dos testes. Porém, o Ministério da Saúde apesar de utilizar a metodologia de associação de testes diagnósticos para o diagnóstico da enfermidade, o faz em série, submetendo a amostra ao segundo teste somente quando o primeiro for positivo, sendo apenas considerado doente o animal cuja amostra seja positiva em ambos os testes realizados, aumentando a especificidade combinada (DE BLAS et al., 2000). A associação em série é preconizada pelo MS porque aumenta a especificidade e também diminui os custos na operacionalização do diagnóstico (DE BLAS et al., 2000).

O DPP® é um teste com alta sensibilidade e especificidade variando de 89 a 75% e 70 a 56%, respectivamente, conforme o *status* clínico dos animais (FIGUEIREDO *et al.*, 2018). O teste é mais específico para cães assintomáticos porém menos sensível para esse grupo, diferente do que é exigido na utilização de testes diagnósticos como ferramenta de triagem no programa de controle da LV (SCHUBACH *et al.*, 2014). No entanto, sendo um teste mais específico para os assintomáticos ele teria menor chance de de resultados falso-negativos, o que seria um bom resultado para nosso estudo realizado em área indene. Em áreas não endêmicas ao se realizar vigilância epidemiológica ativa não espera-se encontrar animais com sintomatologia (FIGUEIREDO et al., 2018) mas em regiões endêmicas estima-se que apenas um em cada cinco cães infectados desenvolve sinais clínicos de LVC, o que demonstra que o diagnóstico do doença é um desafio independente da prevalência.

A menor sensibilidade do teste para animais assintomáticos ocorre porque o título de anticorpos produzidos na LVC está relacionado, geralmente, com a manifestação de sinais clínicos e pela probabilidade de identificação de animais nessas áreas (MAIA & CAMPINO, 2008). Mesmo assim, entre os testes diagnósticos sorológicos disponíveis para a enfermidade, o DPP® tem sido descrito como um dos mais confiáveis (FIGUEIREDO *et al.*, 2018; RIBEIRO *et al.*, 2019). Ribeiro *et al.*, (2019) demonstraram que o DPP® apresentou sensibilidade superior (97,9%), bem diferente da observada por Grimaldi et al., (2012) (47%) em animais

assintomáticos. Assim como Laurenti *et al.* (2014), que relataram sensibilidade de 90,6% no mesmo teste em animais com ou sem sinais de LVC.

Infecção recente, soroconversão insuficiente ou resolução da infecção podem resultar em baixos títulos de anticorpos assim como a cicatriz imunológica de uma infecção previa, ou mesmo, reações cruzadas com outros patógenos como *Erichia* spp, *Trypanossoma cruzi* e *Leishmania braziliensis* (ZANETTE *et al.*, 2014). Isso é mais frequente quando se utilizam testes sorológicos com antígenos brutos, como é o caso do ELISA da Bio-Manguinhos® sendo menos frequentes naqueles que utilizam antígenos recombinantes como é o caso do DPP® (BOTEGA *et al.*, 2023).

No teste confirmatório 37% (7/19) das amostras foram sororreagentes, sendo considerados os animais infectados conforme nota técnica vigente (MS, 2011). Uma amostra foi inconclusiva (5,2%) e 42% (8/19) negativas. Os animais sororreagentes em ambos os testes residiam nos municípios de Pelotas (4), Rio Grande (1), Bagé (1) e São Borja (1). O animal de Rio Grande foi de Itaqui para o município ainda jovem e um dos animais sororreagentes ficava em Pelotas por longos períodos mas visitava com frequência Uruguaiana. Itaqui assim como São Borja e Uruguaiana são municípios com casos de LV (CEVS, 2022).

A utilização de testes confirmatórios é uma estratégia adotada no Brasil e tem como finalidade diminuir a proporção da eutanásia de cães falso positivos (MENDONÇA *et al.*, 2017) o que em nosso trabalho corresponderia a 42% dos animais. Mas, a utilização de um segundo teste sorológico como confirmatório, uma vez que o teste de triagem também é sorológico, não eliminou o problema do falso positivo, porque ambos os testes medem a mesma característica biológica (MENDONÇA *et al.*, 2017). Diante desse fato, compreende-se que a falta de um teste parasitológico, considerado padrão-ouro pela alta especificidade (BRASIL, 2014) ou um teste molecular (MENDONÇA *et al.*, 2017) a fim de comprovar a infecção nos animais foram limitações nesse trabalho. No entanto, é importante ressaltar que o protocolo utilizado é o recomendado oficialmente pelo MS em áreas endêmicas e que o objetivo desse estudo foi verificar a existência de animais com anticorpos anti-*Leishmania* utilizando esses testes em área indene, servindo de alerta para que a vigilância epidemiológica dos municípios realizem investigações que visem elucidar o contexto da possível implantação da doença, se confirmada.

Ao avaliar a concordância dos resultados dos testes com o estado de infecção dos animais, Ribeiro *et al.*, (2019) observaram que o DPP® foi o teste com maior índice de concordância *kappa* (0,92) e que foi o único teste com classificação de concordância quase perfeita. Além disso, relataram que o DPP® reconheceu o maior número de verdadeiros positivos no seu estudo, apresentando apenas três falsos negativos e atingindo 96,8% de acerto.

Esses resultados encorajam a utilização desse teste em inquéritos e reforçam a relevância dos resultados encontrados no nosso trabalho que identificou dezenove amostras sororreagentes nesse teste, sendo confirmadas sete com o ELISA.

Portanto, em nosso estudo foram considerados infectados sete animais, o que representou 37% (7/19) de amostras positivas, não sendo um resultado esperado para uma área considerada indene. Em relação à não concordância entre os testes DPP® e ELISA em 42% das amostras (8/19) considera-se que isso pode trazer importantes consequências para os animais diante da legislação vigente assim como para a saúde pública (BRASIL, 2014). Resultados falso-positivos podem condenar o animal a eutanásia ou a um tratamento desnecessário, assim como resultados falso-negativos podem favorecer a manutenção de um animal infectado como reservatório. Sem as medidas cabíveis de controle e considerando-se que a capacidade infectante ao vetor do cão assintomático pode ser igual ou até superior a de cães sintomáticos (LAURENTI *et al.*, 2013) esses animais ficariam suscetíveis à picada do flebotômíneo e fariam manutenção do ciclo.

No presente trabalho os animais infectados tiveram distribuição homogênea entre os portes pequeno (n=3) e médio (n=3) sendo apenas um de porte grande. Sabe-se que cães de porte grande estão mais suscetíveis a picada do flebotômíneo porque geralmente tem mais acesso as áreas externas do domicílio (ROMBOLÀ *et al.*, 2021), porém os cães menores são mais fáceis de terem mobilidade intermunicipal e interestadual podendo estar mais sujeitos a infecções alóctones o que poderia culminar na disseminação de patógenos e vetores (WRIGHT *et al.*, 2020).

O aumento da migração humana, as alterações climáticas e as viagens com animais de estimação são fatores que favorecem a expansão de doenças zoonóticas (WRIGHT *et al.*, 2020). A falta de uma guia de trânsito para animais de pequeno porte que exija atestado de sanidade, incluindo exames negativos para doenças como LVC, além do não encoleiramento com ação repelente preventiva nos cães, dificulta ainda mais o controle da expansão territorial da doença (DIAS *et al.*, 2022). Ainda, a circulação do parasita em áreas indenens, viabiliza que vetores nativos possam se infectar e se adaptar para transmitir o protozoário (RÊGO *et al.*, 2020).

De acordo com a literatura, presume-se que a expansão da LV para o Sul do Brasil tenha ocorrido quando milhares de trabalhadores foram deslocados constantemente do Nordeste, uma área endêmica para LV, para a construção do gasoduto Bolívia Brasil (PASQUALI *et al.*, 2019). De forma análoga, o município de Rio Grande-RS, por ter um pólo naval, conta com intenso fluxo de trabalhadores imigrados para trabalhar. Ainda, tanto Pelotas-RS como Rio Grande-RS têm pólos universitários federais, o que também favorece o fluxo intenso de pessoas de várias

partes do Brasil, muitas vezes acompanhados por seus animais de companhia, como foi verificado para um dos animais sororreagentes que residia em Pelotas nos períodos de aula mas voltava para Uruguaiana durante as férias da universidade, favorecendo a circulação do parasito.

Na população total testada (n=2365) havia mais animais *sêniors* (39%), seguido de idosos (20%), adultos (18,5%) e jovens (11%). E quanto à faixa etária, a mais prevalente nos animais infectados foram de adultos (n=5) e jovens (n=2). Essa diferença no padrão etário entre a população infectada e total pode ter ocorrido por tratar-se de uma amostragem por conveniência realizada com animais atendidos em um hospital veterinário, com maior procura de atendimento para animais senis. Botega *et al.*, (2023) não identificaram relação entre a sorologia positiva para LVC com sexo e raça, enquanto Fernandes *et al.* (2016) incluíram idade, sexo, raça e pelagem dos animais como fatores de risco para a enfermidade. Há inconsistência dos estudos referente a relação entre fase de desenvolvimento e infecção por *Leishmania* spp., sendo que a maior soroprevalência em cães mais velhos pode estar relacionada com exposição repetida ao vetor e duração da resposta sorológica, o que não corresponderia necessariamente ao aumento do risco de infecção na população (VELOSO *et al.*, 2021).

Entre os animais infectados a maioria tinha raça definida (4/7) semelhante ao encontrado por Michelin *et al.*, (2018). Isso pode estar relacionado à maior probabilidade desses animais serem comprados em canis comerciais de outros municípios que sejam endêmicos ou tenham proximidade com municípios nessa situação (WRIGHT *et al.*, 2020) como é o caso de um dos animais que residia no bairro Areal em Pelotas e foi comprado ainda filhote em um canil localizado no município de Osório-RS, próximo a Porto Alegre.

Quanto à localidade de residência dos animais sororreagentes no DPP® (19/2365), é importante ressaltar que os bairros com maior número de casos positivos no teste de triagem (Centro e Fragata com 15,8% de casos cada) foram também aqueles que tinham as maiores porcentagens de amostras testadas no município (22,5% e 19,6% respectivamente), aumentando portanto a chance de encontrar um animal sororreagente. Ainda, por se tratar de uma amostragem por conveniência, esperou-se que a maioria das amostras fossem do município de Pelotas-RS, principal população atendida no hospital.

Importante destacar a proximidade geográfica entre os animais considerados infectados (ícone da cor rosa) conforme ilustrado na Figura 1, fato que requer cuidados e serve como alerta para os órgãos oficiais, porque uma vez que haja a instalação do vetor, a infecção e transmissão poderá ser exponencial na área de concentração dos animais infectados, tornando-se importante o monitoramento dessas áreas e encoleiramento dos cães. Desde 2021, o MS iniciou a

distribuição de coleiras impregnadas com inseticida como uma ferramenta de controle de LVC nos municípios prioritários do país e tem alcançado resultados promissores com diminuição de 27% na incidência de LVH durante o período de teste (WERNECK *et al.*, 2024). Embora sejam resultados animadores sabe-se da limitação de recursos públicos para a implantação dessa medida de forma homogênea nos municípios, sendo por isso priorizados os locais endêmicos. No entanto, ao identificar uma área com a presença de animais sororreagentes, mesmo em áreas indenes essa medida seria uma ferramenta necessária visando a prevenção.

A principal forma de transmissão da LV é através do vetor *Lu. longipalpis* mas pode ocorrer por outros flebotomíneos como identificado nos inquéritos entomológicos de Porto Alegre (RÊGO *et al.*, 2020) em que não foi encontrada essa espécie. Vetores alternativos como carrapatos (*Rhipicephalus sanguineus*), pulgas (*Ctenocephalides* sp.), mutucas (COELHO *et al.*, 2016) e *Aedes aegypti* (COELHO *et al.*, 2017) têm sido investigados. Mas, embora o material genético e formas promastigotas de *L. infantum* tenham sido encontrados nesses parasitos, o potencial de transmissão do protozoário e a relevância desses vetores na cadeia epidemiológica da LV não foram comprovados. Além disso, o papel de novos reservatórios na epidemiologia da LV, que podem ter futuramente papel crucial na disseminação da doença, também têm sido investigado. Pesquisadores já isolaram *Leishmania* spp. em espécies de animais sinantrópicos como morcegos (Ratzlaf *et al.*, 2022) e ratos (Lara-Silva *et al.*, 2014), inclusive no município de Rio Grande onde residem cães considerados infectados nesse trabalho. Segundo Ratzlaf *et al.* (2022) que identificaram o material genético de *Leishmania* spp. em morcegos (*Molossus molossus*) este poderia atuar como reservatório ou fonte de infecção, porém mais estudos são necessários para confirmar isso.

De acordo com o plano de prevenção e controle da LV no Brasil e com a nota técnica nº 1 de 2011 (BRASIL, 2014; BRASIL, 2011), após a suspeita de um caso de LVC o protocolo é realizar o teste de triagem DPP® primeiramente e caso esse seja sororreagente é realizado na sequência o teste confirmatório ELISA. A partir do caso confirmado, deverá ser realizado no raio mínimo de 100 metros próximo ao animal sororreagente, um inquérito sorológico dos cães que habitam a área. Quando se trata do primeiro caso do município deverá ser realizada biópsia para confirmação da espécie de *Leishmania* circulante e se busca identificar a presença do vetor no local (BRASIL, 2014). Com exceção dessas duas últimas etapas, foi seguido o protocolo vigente nesse trabalho, mesmo tratando-se de uma amostragem por conveniência, uma vez que foi possível testar relevante número de cães (ícone azul) que habitavam áreas bem próximas dos sororreagentes como evidenciado na Figura 1.

De acordo com Figueiredo et al. (2018), cães sintomáticos têm cerca de três vezes mais chance de serem positivos nos testes sorológicos em relação aos assintomáticos. Associando essa informação a pesquisa ter sido realizada em uma área considerada indene para LV, considera-se o percentual de 0,8% (19/2365) no DPP® e 37% (7/19) em ambos os testes relevante porém reforça-se que a sorologia não deve ser utilizada como critério isolado para o diagnóstico da LVC, devido as suas limitações (MENDONÇA *et al.*, 2017) e que investigações parasitológicas e entomológicas devem ser realizadas na região.

CONCLUSÃO

No presente estudo, Pelotas, Rio Grande e Bagé são municípios que requerem atenção dos órgãos oficiais quanto à presença de animais sororreagentes para LVC segundo o protocolo vigente do MS, o que pode facilitar a implantação da doença de maneira autóctone com a adaptação de vetores para a transmissão. Possíveis fatores predisponentes para a implantação da enfermidade na região incluem o intenso fluxo migratório de pessoas e animais sem controle sanitário devido aos pólos universitários, porto e regiões turísticas.

AGRADECIMENTOS

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

REFERÊNCIAS

BOTEGA, A. M. *et al.* Evaluation of the cross-reaction between *Leishmania* spp and *T. cruzi* by structural equation model. **Peer Review**, v. 5, n. 15, p. 11-24, 2023. Disponível em: <https://peerw.org/index.php/journals/article/view/724>. Acesso em 29 jan. 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. v. 1, Brasília: Ministério da Saúde, 2014. Acessado em 05 ago. 2023. Online. Disponível em: https://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmaniose_visceral_1edicao.pdf. Acesso em 20 jan. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Nota Técnica Conjunta N.º 01/2011 – CGDTCGLAB/DEVIT/SVS/MS**. Brasília: Ministério da Saúde, 2011.

Centro Estadual de Vigilância em Saúde (CEVS). Atualizações sobre a Vigilância Epidemiológica da leishmaniose visceral no Rio Grande do Sul. **NOTA INFORMATIVA DVE/CEVS nº 14/2023**. 2023. Disponível em: <https://www.cevs.rs.gov.br/upload/arquivos/202307/05104121-nota-tecnica-lvh.pdf>. Acesso em 9 jan. 2024.

Centro Estadual de Vigilância em Saúde (CEVS). **Situação epidemiológica da Leishmaniose Visceral**. 2022. Disponível em: <https://www.cevs.rs.gov.br/lvh-situacao-epidemiologica-dados>. Acesso em: 13 jan. 2024

COELHO, W. M. D.; BUZETTI, W. A. S.; BRESCIANI, K. D. S. Histochemical and molecular evaluation of the prevalence of *Leishmania* spp. in hematophagous insects. **Parasite epidemiology and control**, v. 1, n. 2, p. 85-89, 2016.

COELHO, W. M. D. *et al.* Mosquitos *Aedes aegypti* são vetores potenciais de leishmaniose? – Relato de caso. 2017.

DA SILVA, D. A. *et al.* Assessment of serological tests for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis. **The Veterinary Journal**, v. 195, n. 2, p. 252-253, 2013.

DE BLAS, I. *et al.* WIN EPISCOPE 2.0. Facultad de Veterinaria Zaragoza: Wageningen University: University of Edinburgh, 2000.

DIAS, T. P. *et al.* Leishmaniose visceral na região sul do Brasil: análise crítica frente a evolução epidemiológica. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 5, p. e45711528361-e45711528361, 2022.

FERNANDES, A. R. F. *et al.* Risk factors associated with seropositivity for *Leishmania* spp. and *Trypanosoma cruzi* in dogs in the state of Paraíba, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 25, p. 90-98, 2016.

FIGUEIREDO, F. B. *et al.* Validation of the Dual-path Platform chromatographic immunoassay (DPP® CVL rapid test) for the serodiagnosis of canine visceral leishmaniasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 113, p. e180260, 2018.

FORTNEY, W. D. Implementing a successful senior/geriatric health care program for veterinarians, veterinary technicians, and office managers. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 42, n. 4, p. 823-834, 2012.

Governo do Estado do Rio Grande do Sul; Ministério da Saúde (MS). **Nota técnica conjunta da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde e da Secretaria de Estado da Saúde do Rio Grande do Sul sobre a situação da Leishmaniose Visceral na fronteira do Estado do Rio Grande do Sul com a Argentina**. COVEV/CGDT/DEVEP/SVS/MS. p. 1-3, 2010.

GRIMALDI JR, G. *et al.* Evaluation of a novel chromatographic immunoassay based on Dual-Path Platform technology (DPP® CVL rapid test) for the serodiagnosis of canine visceral leishmaniasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 106, n. 1, p. 54-59, 2012.

KAWAMURA, Takao. Interpretação de um teste sob a visão epidemiológica: eficiência de um teste. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 79, p. 437-441, 2002.

KLAUSNER, J. Banfield Pet Hospital state of pet health: 2013 report. *Banfield Pet Hospital, Portland (OR)*. 2013.

- LARA-SILVA, F. O. *et al.* *Rattus norvegicus* (Rodentia: Muridae) infected by *Leishmania* (*Leishmania*) *infantum* (syn. *Le. chagasi*) in Brazil. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.
- LAURENTI, M. D. *et al.* Asymptomatic dogs are highly competent to transmit *Leishmania* (*Leishmania*) *infantum* *chagasi* to the natural vector. **Veterinary parasitology**, v. 196, n. 3-4, p. 296-300, 2013.
- LAURENTI, M. D. *et al.* Comparative evaluation of the DPP® CVL rapid test for canine serodiagnosis in area of visceral leishmaniasis. **Veterinary parasitology**, v. 205, n. 3-4, p. 444-450, 2014.
- MAIA, C. & CAMPINO, L. Methods for diagnosis of canine leishmaniasis and immune response to infection. **Veterinary parasitology**, v. 158, n. 4, p. 274-287, 2008.
- MENDONÇA, I. L. de *et al.* The performance of serological tests for *Leishmania infantum* infection screening in dogs depends on the prevalence of the disease. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 59, p. e39, 2017.
- MICHELIN, A. de F. *et al.* Factors associated with positivity for canine visceral leishmaniosis in an endemic area in Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 12, p. 13-16, 2018.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Nota Técnica Conjunta nº01/2011- Esclarecimentos sobre substituição do protocolo diagnóstico da leishmaniose visceral canina (LVC) – CGDT-CGLAB/DEVIT. Brasília: **Diário Oficial da União**. 2011.
- MONTEIRO, S. G. *et al.* Detecção de *Leishmania infantum* em cão no município de Uruguaiana, RS: uma contribuição para a discussão das leishmanioses na região sul do Brasil. **Veterinária e Zootecnia**, v. 17, n. 4, p. 497-502, 2010.
- PASQUALI, A. K. S. *et al.* Dispersion of *Leishmania* (*Leishmania*) *infantum* in central-southern Brazil: Evidence from an integrative approach. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 8, p. 1-20, 2019.
- RATZLAFF, F. R. *et al.* Prevalence and molecular detection of *Leishmania* spp. in bats from Rio Grande do Sul state, Brazil. **Parasitology Research**, v. 121, n. 11, p. 3193-3202, 2022.
- RÊGO, F. D. *et al.* Potential vectors of leishmania parasites in a recent focus of visceral leishmaniasis in neighborhoods of porto Alegre, State of Rio Grande do Sul, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 57, n. 4, p. 1286-1292, 2020.
- RIBEIRO, V. M. *et al.* Performance of different serological tests in the diagnosis of natural infection by *Leishmania infantum* in dogs. **Veterinary parasitology**, v. 274, p. 108920, 2019.
- ROMBOLÀ, P. *et al.* Seroprevalence and risk factors associated with exposure to *Leishmania infantum* in dogs, in an endemic Mediterranean region. **PLoS One**, v. 16, n. 1, p. e0244923, 2021.

SALOMÓN, O. D. *et al.* First visceral leishmaniasis focus in Argentina. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, p. 109-111, 2008.

SALOMÓN, O. D. *et al.* *Lutzomyia longipalpis* in Uruguay: the first report and the potential of visceral leishmaniasis transmission. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 106, p. 381-382, 2011.

SERGEANT, E. S. G. *Epitools* epidemiological calculators. **Ausvet Pty Ltd**, 2018.

SCHUBACH, E. Y. P.; FIGUEIREDO, F. B.; ROMERO, G. A. S. Accuracy and reproducibility of a rapid chromatographic immunoassay for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis in Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 108, n. 9, p. 568-574, 2014.

THRALL, M. A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. Editora Roca, 2007.

TRAVI, B. L. *et al.* Canine visceral leishmaniasis: Diagnosis and management of the reservoir living among us. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 12, n. 1, p. e0006082, 2018.

VELOSO, E. C. M. *et al.* Socio-economic and environmental factors associated with the occurrence of canine infection by *Leishmania infantum* in Teresina, Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 24, p. 100561, 2021.

WERNECK, G. L.; FIGUEIREDO, F. B.; CRUZ, M. do S. P. e. Impact of 4% Deltamethrin-Impregnated Dog Collars on the Incidence of Human Visceral Leishmaniasis: A Community Intervention Trial in Brazil. **Pathogens**, v. 13, n. 2, p. 135, 2024.

WERNECK, G. L. Visceral leishmaniasis in Brazil: rationale and concerns related to reservoir control. **Revista de saude publica**, v. 48, p. 851-856, 2014.

WRIGHT, I. *et al.* Parasites and vector-borne diseases disseminated by rehomed dogs. **Parasites & vectors**, v. 13, p. 1-4, 2020.

ZANETTE, M. F. *et al.* Serological cross-reactivity of *Trypanosoma cruzi*, *Ehrlichia canis*, *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Babesia canis* to *Leishmania infantum* chagasi tests in dogs. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 1, p. 105-107, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24603745/>. Acesso em 05 jan. 2024.

4.2 Artigo 2

Conhecimento sobre leishmaniose visceral canina de médicos veterinários que atuam em região indene para a enfermidade no sul do Rio Grande do Sul

Tábata Pereira Dias; Vittória Bassi das Neves; Maria Eduarda Rodrigues; Luã Borges Iepsen; Joara Tyczkiewicz da Costa; Gabrielle Ott Martins; Fabiano Borges Figueiredo; Marlete Brum Cleff

Submetido à Revista Contribuciones a Las Ciencias Sociales

Conhecimento sobre leishmaniose visceral canina de médicos veterinários que atuam em região indene para a enfermidade no sul do Rio Grande do Sul

Knowledge about canine visceral leishmaniasis among veterinarians working in a region free from the disease in southern Rio Grande do Sul

Conocimiento sobre la leishmaniasis visceral canina por parte de veterinarios que actúan en una región libre de la enfermedad en el sur de Rio Grande do Sul

DOI: 10.55905/revconv.XXn.X-

Originals received:

Acceptance for publication:

Tábata Pereira Dias

Doutoranda em Ciências Veterinárias
Universidade Federal de Pelotas
Pelotas, RS, Brasil
tabata_pd@yahoo.com.br

Vitória Bassi das Neves

Doutoranda em Ciências Veterinárias
Universidade Federal de Pelotas
Pelotas, RS, Brasil
vick.bassi@gmail.com

Maria Eduarda Rodrigues

Graduanda em Medicina Veterinária
Universidade Federal de Pelotas
Pelotas, RS, Brasil
Eduarda.rodrigueset@gmail.com

Luã Borges Iepsen

Residente em Anestesiologia Animal
Universidade Federal de Pelotas
Pelotas, RS, Brasil
Iepsen_lua@hotmail.com

Joara Tyczkiewicz da Costa

Graduanda em Medicina Veterinária
Universidade Federal de Pelotas
Pelotas, RS, Brasil
Joaracosta26@gmail.com

Gabrielle Ott Martins

Graduanda em Medicina Veterinária

Universidade Federal de Pelotas
Pelotas, RS, Brasil
gabrielleottmartins@outlook.com

Fabiano Borges Figueiredo
Dr. em Ciências
Instituto Carlos Chagas - Fiocruz
Curitiba, PR, Brasil
fabiano.figueiredo@fiocruz.br

Marlete Brum Cleff
Dra. em Ciências Veterinárias
Universidade Federal de Pelotas
Pelotas, RS, Brasil
marletecleff@gmail.com

RESUMO

O conhecimento de profissionais de saúde sobre leishmaniose visceral (LV) em área endêmica geralmente é insuficiente e acredita-se que em áreas indenes a situação seja ainda pior, o que tem consequências na prevenção e controle da enfermidade. Considerando a expansão geográfica da LV pelo RS, foi objetivo desse trabalho realizar entrevistas com médicos veterinários que atuam em Pelotas e Rio Grande a respeito da epidemiologia, diagnóstico e eutanásia na LVC. Isso foi feito através de entrevistas individuais com 40 médicos veterinários, realizadas através da aplicação de questionário. Foram incluídas perguntas sobre o profissional (2/17), epidemiologia (6/17), diagnóstico (7/17) da LVC e sobre eutanásia (2/17). Dos entrevistados, 42,5% acreditavam que a LV é contagiosa, 95% deles conheciam o agente etiológico, 60% conheciam o vetor e 90% o reservatório urbano. Vinte veterinários (50%) solicitariam o teste padrão-ouro (parasitológico) ao suspeitarem de um caso e 97,5% não tinham o conhecimento de que o DPP® é um teste exclusivo da vigilância epidemiológica. Metade (20/40) dos inqueridos não sabiam o tipo de notificação em que a doença se enquadra e 17,5% acreditava ser obrigatório realizar a eutanásia em todos os animais positivos. Diante dos resultados observou-se que há necessidade de atualização sobre a enfermidade por parte dos veterinários da região, a fim de prepara-los para auxiliar na prevenção e controle da LVC.

Palavras-chave: LVC, epidemiologia, diagnóstico, eutanásia.

ABSTRACT

The knowledge of health professionals about visceral leishmaniasis (VL) in endemic areas is generally insufficient and it is believed that in free areas the situation is even worse, which has consequences for the prevention and control of the disease. Considering the geographic expansion of VL throughout RS, the objective of this work was to conduct interviews with veterinarians who work in Pelotas and Rio Grande regarding the epidemiology, diagnosis and euthanasia of VL. This was done through individual interviews with 55 veterinarians, carried out using a questionnaire. Questions about the professional (2/17), epidemiology (6/17), diagnosis (7/17) and euthanasia (2/17) were included. Of those interviewed, 42.5% believed

that VL is contagious, 95% of them knew the etiological agent, 60% knew the vector and 90% knew the urban reservoir. Twenty (50%) veterinarians would request the gold standard (parasitological) test when they suspected a case, and 97.5% were unaware that the DPP® is an exclusive test for epidemiological surveillance. Half (20) of respondents did not know the type of notification the disease falls under, and 17.5% believed it was mandatory to euthanize all positive animals. In view of the results, it was observed that there is a need for veterinarians to update the subject so that they can be prepared to assist in the prevention and control of CVL.

Keywords: CVL, epidemiology, diagnosis, eutanásia.

RESUMEN

El conocimiento de los profesionales de la salud sobre la leishmaniasis visceral (LV) en zonas endémicas es generalmente insuficiente y se cree que en zonas libres la situación es aún peor, lo que tiene consecuencias para la prevención y control de la enfermedad. Considerando la expansión geográfica de la LV en toda RS, el objetivo de este trabajo fue realizar entrevistas a médicos veterinarios que actúan en Pelotas y Río Grande sobre la epidemiología, diagnóstico y eutanasia de la LV. Esto se hizo a través de entrevistas individuales a 55 veterinarios, realizadas mediante un cuestionario. Se incluyeron preguntas sobre el profesional (2/17), epidemiología (6/17), diagnóstico (7/17) y eutanasia (2/17). De los entrevistados, el 42,5% creía que la LV es contagiosa, el 95% conocía el agente etiológico, el 60% conocía el vector y el 90% conocía el reservorio urbano. Veinte (50%) veterinarios solicitarían la prueba gold estándar (parasitológica) cuando sospechaban un caso, y el 97,5% desconocía que la DPP® es una prueba exclusiva para vigilancia epidemiológica. La mitad (20) de los encuestados no conocía el tipo de notificación al que se aplica la enfermedad y el 17,5% creía que era obligatorio sacrificar a todos los animales positivos. A la vista de los resultados, se observó que existe la necesidad de que los médicos veterinarios actualicen el tema para que estén preparados para ayudar en la prevención y control de la LVC.

Palavras chave: LVC, epidemiología, diagnóstico, eutanásia.

1 INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral canina (LVC) foi notificada pela primeira vez no Rio Grande do Sul em 2006, no município de São Borja (Azevedo *et al.*, 2009). Desde então ela tem se expandido para outras cidades do estado como Porto Alegre, Itaqui e Uruguaiana (CEVS-RS, 2023) causando preocupação no contexto da saúde pública. A dispersão da LVC é silenciosa, considerando que mais de 60% dos cães são assintomáticos (Laurenti, 2009; Laurenti *et al.*, 2013; Brasil, 2014) dificultando a suspeita.

Em áreas endêmicas a enfermidade é um desafio tanto epidemiológico quanto diagnóstico para o setor público e privado. Estudos revelaram a falta de compreensão dos

profissionais de saúde, o que inclui os médicos veterinários, sobre a LV (leishmaniose visceral) em áreas endêmicas (Massia, 2017; Costa, 2021). Portanto, presume-se que em áreas indenes, esse conhecimento seja ainda menor. Associando isso à falta de conhecimento da população em geral, o resultado são medidas ineficientes de prevenção e controle da LV (Camargo *et al.*, 2015).

À partir de 2011 (MS, 2011), o diagnóstico da LVC pela vigilância epidemiológica inclui dois testes sorológicos, sendo um para triagem (*Dual Path Platform - DPP®*) e outro como confirmatório (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay -ELISA®*) ambos desenvolvidos pela Bio-Manguinhos®. Esses testes não estão disponíveis para os veterinários utilizarem nos estabelecimentos e clínicas, sendo de uso restrito dos órgãos oficiais. Na rede particular os profissionais têm disponíveis outros testes, com diferentes antígenos e metodologias portanto, com diferentes especificidades e sensibilidades (Dias, 2021), o que torna complexa a escolha do método diagnóstico e a interpretação dos resultados pelos veterinários.

Uma das medidas de controle da doença, instituído desde os primeiros casos de LVC no país e realizada até os dias atuais, é a eutanásia de cães sororreagentes infectados e/ou doentes (Brasil, 2014). Esse protocolo é discutido calorosamente na sociedade uma vez que muitos países vêm alterando suas legislações a respeito dessa medida sanitária no contexto do bem-estar animal (de Sá *et al.*, 2023) e da falta de eficiência do método em prol da saúde pública (de Sá *et al.*, 2023), uma vez que não tem diminuído a prevalência e expansão geográfica de casos da enfermidade segundo pesquisadores (Zuben & Donalísio, 2016; Werneck, 2014). A divergência de opiniões entre médicos veterinários e órgãos públicos no que tange a eutanásia na LVC, teve como uma das consequências a subnotificação de casos para a vigilância epidemiológica por parte dos profissionais, que também não concordavam com os métodos diagnósticos adotados pelo sistema público, alegando falta de sensibilidade e especificidade suficientes dos testes para decidir sobre a remoção dos reservatórios (Dias, 2021).

Diante da relevância da enfermidade no contexto de saúde pública, da sua recente expansão geográfica no RS e da importância dos médicos veterinários como promotores da saúde, foi objetivo desse trabalho mensurar o conhecimento de profissionais que atuavam em dois municípios indenes para LV no sul do RS acerca da epidemiologia, diagnóstico, controle e eutanásia na enfermidade.

2 METODOLOGIA

Foi realizado contato via *WhatsApp* com profissionais médicos veterinários atuantes nos municípios de Pelotas e Rio Grande, RS, Brasil. Os profissionais foram selecionados por indicação dos graduandos de Medicina Veterinária. Durante o contato foi realizada a explicação do projeto e o convite para a entrevista. Em caso de aceite era enviado o termo de consentimento via *WhatsApp* para o profissional. O único critério estabelecido para a inclusão dos veterinários na entrevista era atuar nos municípios citados, devido a estes locais serem considerados indenes para LVC e, porque vinha sendo realizado um inquérito soroepidemiológico da enfermidade em cães nessa região pelos autores desde 2019 (Dias, 2021).

Para realizar a aplicação dos questionários, os entrevistadores (graduandos de medicina veterinária) passaram por treinamento, a fim de aplicar as questões sem influenciar ou induzir respostas nos entrevistados. Esse treinamento foi primeiramente expositivo com demonstrações de entrevistas realizadas com e sem os cuidados na entonação da voz ao realizar os questionamentos. Após esse momento, os entrevistadores foram submetidos a uma experiência prática, onde foram entrevistados pelos colegas. Por último, foram avaliados quanto à postura e entonação da voz no momento da entrevista, teste que realizaram com graduandos que não estavam envolvidos no projeto. As entrevistas foram realizadas entre março de 2021 a março de 2022.

A entrevista ocorreu pela plataforma do *Google Meet*®, através de vídeo chamada, realizada com agendamento prévio, conforme a disponibilidade do profissional e com duração prevista de 30min. Inicialmente os entrevistados eram questionados quanto ao local onde foi realizado o curso de graduação; estado e município de origem e área de atuação. A partir desse momento, que servia também para ambientação do entrevistador e entrevistado, bem como a checagem de fatores relacionados a *internet*, as perguntas eram projetadas na tela do celular ou computador do entrevistado e o entrevistador desligava a câmera. A estrutura do formulário foi composta por 12 perguntas, que abordavam pontos sobre o nível de conhecimento em relação a epidemiologia, diagnóstico, controle e eutanásia na enfermidade. Para cada pergunta foi disponibilizado diferente número de alternativas. As respostas foram registradas em planilhas da plataforma *Excel*® e analisadas por cálculo de porcentagem.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram convidados a participar da pesquisa 55 médicos veterinários atuantes nos municípios de Pelotas-RS e/ou Rio Grande no RS, considerados indenes para LVC. Após esse primeiro contato, 40 (73%) profissionais aceitaram ser entrevistados e 15 (27%) declinaram do convite. Entre os 40 entrevistados houve maior proporção do sexo feminino, sendo 37 mulheres, semelhante ao encontrado por outros autores (Massia, 2017; Costa, 2021). No entanto, é importante ressaltar que, em nosso estudo, a maior proporção de profissionais entrevistados foi de mulheres (37/40), assim como a proporção de convidados a participar da entrevista. Apesar disso é relevante destacar que o gênero feminino é predominante na profissão segundo o Conselho Federal de Medicina Veterinária. Quanto às especialidades dos profissionais, 55% (22/40) eram da clínica médica de pequenos animais, 10% (4/40) da clínica cirúrgica e o mesmo percentual (10%) eram anestesiólogos e os outros 30% pertenciam a diferentes áreas sendo agrupadas na opção “outra”.

Com relação ao questionamento quanto a LVC ser uma enfermidade zoonótica, a maioria dos entrevistados (97,5%; 39/40) disseram que sim, e apenas um veterinário (2,5%; 1/40) respondeu que não (Tabela 1). Os resultados estão semelhantes ao observado por Massia (2017), ao aplicar questionário para médicos veterinários de Uruguaiana-RS e no de Costa (2021) aplicado a profissionais de Araguaína-TO, onde todos veterinários entrevistados responderam que LVC é uma zoonose. O profissional que respondeu que não era zoonose, pode ter sido influenciado por não ter em sua rotina o diagnóstico da LVC, já que a cidade é indene para a doença, diferente dos municípios onde foram realizados os questionários de Massia, (2017) e Costa, (2021).

Tabela 1: Dados obtidos das entrevistas com Médicos Veterinários que atuavam nos municípios de Pelotas e Rio Grande no RS, indenes para LVC sobre epidemiologia da doença.

Questões	Respostas	n	%
1. LV é uma zoonose?	Sim	39	97,5
	Não	1	2,5
	Não sei	0	0
2. LV é contagiosa?	Sim	17	42,5
	Não	21	52,5
	Não sei	2	5
3. É uma doença causada por qual tipo de agente?	Bactéria	0	0
	Protozoário	38	95
	Não sei	2	5
4. Quem transmite a LV?	Cão	2	5
	Mosquito	14	35
	Flebotomíneo	24	60
5. Qual principal reservatório urbano de LV?	Flebotomíneo	2	5
	Mosquito	1	2,5

	Cão e gato	1	2,5
	Gato	0	0
	Cão	36	90
	Não sei	0	0
6. Quais são as vias de transmissão da LV?	Transplacentária	21	52,5
	Transmamária	10	25
	Coito	7	17,5
	Através do vetor	40	100
	Transfusão sanguínea	27	67,5

(LV) leishmaniose visceral; (n) Número; (%) Percentual

Fonte: Os autores, (2024).

Quanto à enfermidade ser contagiosa, 52,5% (21/40) disseram corretamente que não. Entre aqueles que responderam que a LV é uma doença contagiosa e os que não sabiam a resposta somaram-se 47,5% dos profissionais, quase metade dos entrevistados estava com a informação equivocada. Essa porcentagem causa preocupação porque implica diretamente nas recomendações preventivas que esses profissionais farão aos tutores dos animais atendidos por eles, já que a maioria dos entrevistados (55%) atuavam diretamente na clínica médica de pequenos animais.

A LV é uma zoonose vetorial transmitida pela picada do flebotomíneo e pode acometer qualquer animal vertebrado, mas o cão, pelo intenso parasitismo na pele e resposta imunológica ineficiente é considerado reservatório da doença em área urbana (Brasil, 2014). No entanto, trata-se de uma enfermidade infecciosa não contagiosa (Brasil, 2014), não requerendo quarentena dos animais infectados por exemplo, mas sendo de suma importância a recomendação do médico veterinário para os tutores em relação às medidas de prevenção da infecção. Entre as medidas, inclui-se o uso constante de coleiras repelentes com deltametrina 4% nos animais, sendo essa uma estratégia implementada pelo Ministério da Saúde em áreas endêmicas, e que tem demonstrado bons resultados na redução da prevalência (Werneck *et al.*, 2024).

O conhecimento dos elementos envolvidos na cadeia de transmissão da LVC incluindo: agente, reservatório e vetor, é fundamental para realizar o controle da LVC e auxiliar nas medidas de prevenção da enfermidade (Costa, 2021). Por se tratar de uma zoonose, a LV tem potencial para acometer também seres humanos, e é através do papel do médico veterinário, junto a outros agentes da saúde, que a população precisa ser instruída quanto aos cuidados que podem mitigar a transmissão (Camplesi, 2018). Sendo assim, é fundamental que todos os profissionais que estão na linha de frente no combate à LV (médicos, médicos veterinários, agentes de endemias), compreendam claramente a epidemiologia da doença para assim propagar o conhecimento à população de forma mais assertiva (Costa, 2021).

Quanto à etiologia, a maioria dos entrevistados conhecia o agente etiológico da LVC, uma vez que 95% responderam tratar-se de um protozoário. Nossos dados são próximos ao encontrado por Costa (2021), onde 100% dos profissionais da mesma classe responderam corretamente. O conhecimento sobre os agentes etiológicos das doenças possibilita ao profissional uma condução terapêutica mais assertiva (Nelson & Couto, 2019). Diferente do uso intencional de antibióticos no tratamento da LVC, como é descrito para a marbofloxacina (Amante *et al.*, 2020), se o profissional presumir se tratar de uma infecção primária por bactérias, por exemplo, pode prescrever equivocadamente essa classe de medicamento, submetendo os animais a um tratamento ineficaz e favorecendo, a ocorrência de resistência aos antimicrobianos, além da disseminação da LVC pela manutenção do animal doente (Nelson & Couto, 2019).

Desde o ano de 2016 o tratamento da LVC é permitido no Brasil, mas este deve ser obrigatoriamente com o fármaco miltefosina, o que não exclui a utilização de outros fármacos com ação sinérgica, desde que estes não sejam utilizados para o tratamento da doença em pessoas (MAPA / MS, 2016).

Quando questionados sobre quem transmite e quem é o reservatório urbano da LV, a maioria respondeu que seria o flebotômíneo o transmissor (24/40; 60%) e o cão o reservatório (36/40; 90%). No entanto, 5% (2/40) dos entrevistados acreditam que a transmissão da LV ocorre pelo cão, e 35% (14/40) pelo mosquito. Diante do alto percentual de entrevistados que disseram ser o mosquito o transmissor, acredita-se que esses desconhecem as diferenças entre mosquitos e flebotômíneos. No trabalho de Costa (2021), 25% dos veterinários responderam equivocadamente que o cão é o transmissor da LV, proporcionalmente o mesmo descrito em nosso estudo, entretanto divergindo de Massia (2017), onde nenhum dos 30 médicos veterinários entrevistados em Uruguaiana-RS acreditavam ser o cão o transmissor.

Quando questionados sobre o principal reservatório urbano de LV a maioria (90%) respondeu assertivamente ser o cão, mas 2,5% (1/40) acreditavam ser tanto o cão como o gato, enquanto 2,5% (1/40) citaram o mosquito e 5% (2/40) o flebotômíneo. A infecção por *L. infantum* em gatos tem sido cada vez mais relatada nas mesmas áreas onde a LVC é endêmica (Maroli *et al.*, 2007), mas até o momento, não se sabe ao certo o papel epidemiológico dos felinos na LV. Reservatório e vetor são conceitos importantes dentro do ciclo epidemiológico de uma doença. O cão é o principal reservatório em área urbana da LV e os flebotômíneos são os vetores (Brasil, 2014). A possível confusão entre os termos mosquito e flebotômíneo tem implicações no reconhecimento do vetor, assim como nas medidas preventivas, uma vez que eles têm ciclos de vida diferentes (Brasil, 2014).

Em nosso trabalho, acredita-se que a porcentagem de erro quanto aos termos reservatório e vetor, tenha ocorrido por confusão e não desconhecimento, semelhante ao trabalho de Costa, (2021) assim como para os termos mosquito e flebotomíneo uma vez que um dos nomes populares do vetor no Brasil é “mosquito-palha” (Brasil, 2014).

Quando questionados sobre forma(s) de transmissão(ões) da LV, os participantes podiam responder mais de uma alternativa. Todos responderam pela picada do flebotomíneo (40/40); 67,5% (27/40) por transfusão sanguínea; 52,5% (21/40) por via transplacentária; 25% (10/40) por via transmamária e 17,5% (7/40) pelo coito (Tabela 1). O resultado demonstrou bom nível de conhecimento dos entrevistados com 100% de acerto, já que a principal forma de transmissão da LV ocorre através da picada de flebotomíneos (Brasil, 2014). Verificou-se que o menor conhecimento dos profissionais foi quanto a transmissão pelo coito (17,5%).

Apesar da menor frequência outras formas de transmissão não são menos relevantes, incluindo: a transfusão sanguínea (França *et al.*, 2018), a via transplacentária (Salant *et al.*, 2021) e o coito (Diniz *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2009; Silva *et al.*, 2014). Quanto à via transmamária, alguns trabalhos verificaram a presença do protozoário em glândulas mamárias e leite citando a possibilidade dessa forma de transmissão vertical (Boechat *et al.*, 2016). Segundo Toepp *et al.* (2017), a transmissão vertical em cães pode ser a principal via de propagação da *Leishmania* spp. em áreas onde não há evidências da transmissão vetorial, podendo contribuir para a manutenção da doença nas áreas endêmicas.

A possibilidade de transmissão por transfusão sanguínea não foi relatada por 32,5% dos profissionais entrevistados. Esse desconhecimento pode colocar em risco pacientes que já estão debilitados, caso recebam a doação de sangue de um animal infectado. Entre os testes a que são submetidos os doadores de sangue deve sempre estar incluso, independente da área de atuação dos profissionais ou origem dos animais, àqueles para verificar a infecção por *L. infantum* diante da crescente expansão geográfica da doença e mobilidade dos animais sem um controle sanitário no país (França *et al.*, 2018).

A segunda parte da entrevista foi sobre o diagnóstico na LVC (Tabela 2). Quando foram questionados sobre como procederiam para realizar o diagnóstico da LVC, 87,5% (35/40) dos médicos veterinários solicitariam testes sorológicos se tivessem frente a um caso suspeito; 50% (20/40) solicitariam teste parasitológico; 37,5% (15/40) avaliação molecular e 30% (12/40) exame histopatológico, conforme pode ser verificado na Tabela 2. Devido à resposta humoral desenvolvida pelos cães com LVC, o diagnóstico sorológico torna-se uma boa ferramenta dependendo da sensibilidade e especificidade do teste (Brasil, 2014). No entanto, a ocorrência de falsos negativos é possível, principalmente pelo baixo título de

anticorpos em animais assintomáticos. Em relação ao teste parasitológico, este é considerado padrão-ouro no diagnóstico da LVC, apresentando alta especificidade, entretanto tem menor sensibilidade dependendo do treinamento do profissional para coleta de amostra e para leitura das lâminas (Brasil, 2014). O teste molecular tem se mostrado uma boa ferramenta para o diagnóstico de LVC, mas está condicionado ao tipo de amostra e grau de parasitismo dos animais assim como o diagnóstico histopatológico (Reithinger *et al.*, 2019).

Tabela 2: Dados obtidos das entrevistas com Médicos Veterinários que atuavam nos municípios de Pelotas e Rio Grande no RS, indenes para LVC sobre o diagnóstico da LVC.

Questões	Respostas	n	%
1. Quais exames você solicitaria em um caso suspeito de LVC?	Parasitológico	20	50
	Sorológico	35	87,5
	Molecular	15	37,5
	Histopatológico	12	30
	Não sei	0	0
2. Como proceder para diagnosticar a LVC na clínica veterinária?	Triagem com DPP®, e confirmatório com ELISA/PCR/Parasitológico	22	55
	Triagem DPP® ou CAAF*, confirmatório com ELISA/PCR/Parasitológico	12	30
	Triagem com ELISA, confirmatório com DPP®, PCR	3	7,5
	Triagem com PCR, confirmatório com ELISA ou DPP®	2	5
	Triagem com RIFI e confirmatório com DPP®	0	0
	Teste rápido (imunocromatográfico) sorológico de triagem ou CAAF*, ELISA/PCR confirmatórios	14	35
	Não sei	0	0
3. Você conhece o protocolo para diagnosticar a LVC na rede pública? Qual das opções abaixo descreve o fluxo diagnóstico?	Teste sorológico de triagem DPP®, teste confirmatório ELISA/PCR/Cultura	13	32,5
	Teste de triagem ELISA, teste confirmatório DPP®, PCR	9	22,5
	Teste de triagem PCR, confirmatório ELISA ou DPP®	3	7,5
	Teste de triagem RIFI e confirmatório DPP®	0	0
	Teste rápido (imunocromatográfico) sorológico de triagem, ELISA/PCR confirmatórios	15	37,5
Não sei	0	0	
4. Que tipo de notificação a LVC é?	Compulsória	20	50
	Imediata	14	35
	Não compulsória	1	2,5
	Não sei	5	12,5
5. O diagnóstico confirmatório da LVC no serviço público é realizado onde?	Qualquer laboratório	1	2,5
	Laboratórios da rede municipal	1	2,5
	Laboratórios da Rede Estadual	4	10
	LACEN (Laboratórios Centrais da Saúde Pública) localizados em cada município	10	25
	LACEN localizado na Capital do estado	24	60
Não sei	0	0	

Legenda: ELISA: *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*; PCR: Reação em Cadeia da Polimerase; DPP®: *Dual Path Platform*; *CAAF – citologia aspirativa por agulha fina.

Fonte: o autor

Assim, diante das limitações dos testes, o recomendado é a utilização de mais de uma técnica de forma conjunta (Grimaldi *et al.*, 2012). No trabalho de Massia (2017) os veterinários

inqueridos utilizavam diferentes métodos de diagnóstico para LVC e dentre os profissionais avaliados 33,33% (9/27) realizariam o diagnóstico parasitológico associado a alguma técnica sorológica. Mas apenas solicitavam teste sorológico em laboratório oficial 29,63%, o que corresponde a um terço dos entrevistados o que está relacionado a subnotificação de casos da enfermidade. Esta autora não identificou padronização no diagnóstico da LVC, uma vez que os veterinários utilizavam diferentes técnicas sorológicas com distintas sensibilidades e especificidades o que torna-se um problema importante. Segundo Camplesi *et al.*, (2018), a citologia é uma ferramenta diagnóstica eficaz em áreas endêmicas pelo baixo custo e facilidade de execução.

Os profissionais foram questionados quanto ao fluxo diagnóstico para LVC que seguiriam em suas clínicas particulares, considerando que atuam em áreas indenes, sendo que 85% (34) dos profissionais afirmaram que iniciariam pelo (DPP®) e outros (30%) incluiriam ele como possível teste confirmatório. Apesar desse teste ser para triagem para a doença, o mesmo não está disponível comercialmente para ser utilizado nos estabelecimentos particulares. O DPP® é um teste sorológico qualitativo imunocromatográfico impregnado com a proteína recombinante rK28 utilizado pelo governo brasileiro para a triagem de animais suspeitos de LVC, principalmente em inquéritos soropidemiológicos (Figueiredo *et al.*, 2018). Conhecer as opções de testes diagnósticos disponíveis é importante para os profissionais, assim como o conhecimento a respeito daqueles utilizados pelos órgãos oficiais para a condução de casos de uma zoonose com tamanha relevância.

Apenas 35% (14/40) dos veterinários disseram que iniciariam com um teste rápido imunocromatográfico para a triagem ou realizariam o CAAF com o mesmo objetivo, utilizando os testes de ELISA e/ou PCR como confirmatórios. Importante ressaltar que esses testes sororreagentes/positivos apenas, não configuram *status* de doente ao animal, necessitando os resultados serem avaliados em conjunto com os dados clínicos e epidemiológicos (Brasil, 2014).

As técnicas laboratoriais usualmente utilizadas para o diagnóstico da LVC são as parasitológicas e as sorológicas (Brasil, 2014). Nos inquéritos epidemiológicos, as sorológicas são as mais empregadas pela facilidade do diagnóstico, considerando a resposta humoral dos animais e os bons valores de sensibilidade e especificidade dos testes desenvolvidos. Cabe ressaltar que não existem testes diagnósticos que apresentem 100% de sensibilidade e especificidade para LVC mas aqueles utilizados em saúde pública no Brasil são avaliados sob todos os parâmetros, tais como: sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor

preditivo negativo, reprodutibilidade e praticidade para assegurar a qualidade (Figueiredo *et al.*, 2018).

O diagnóstico da LVC é complexo e segue fluxo diferente na rede pública (vigilância epidemiológica) e privada (clínicas veterinárias), mas eles devem ser complementares (Dias, 2021). Quando questionados se conheciam o protocolo para o diagnóstico da LVC instituído pelo Ministério da Saúde em área indene, 32,5% (15/40) dos entrevistados responderam a alternativa que descrevia corretamente o fluxo diagnóstico para municípios sem histórico de LVC. Neste caso, considerando um primeiro caso autóctone seria realizado um teste sorológico de triagem (DPP®), teste confirmatório (ELISA), PCR e cultura (Brasil, 2014). Quando é notificado o primeiro caso de LVC em uma área indene, após o PCR de tecidos biológicos é necessário fazer a cultura do parasito para posterior identificação da espécie/cepa de *Leishmania* que está circulando na região (Brasil, 2014). Em áreas endêmicas são realizados apenas os testes sorológicos DPP® e ELISA na rotina (Donato *et al.*, 2013).

Quando questionados quanto ao local em que o diagnóstico confirmatório de LVC é realizado pelo serviço público, 60% (24/40) responderam corretamente que esse diagnóstico é realizado no Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN) localizado na capital do estado. Mas 25% (10/40), apesar de ter respondido que seria no LACEN, acreditava que exista um laboratório central em cada município. Sendo a LVC uma doença de notificação compulsória é importante ter clareza dos locais onde se realiza a notificação e do fluxo diagnóstico. Segundo Brasil (2014), quando o tutor ou mesmo o profissional veterinário, estiver em desacordo com resultado confirmatório positivo emitido pelo LACEN, estes têm o direito de solicitar uma contraprova, mas o único laboratório em que essa deve ser solicitada é no LACEN, não sendo válidas oficialmente contraprovas de estabelecimentos particulares (Brasil, 2014).

A notificação compulsória trata-se da comunicação obrigatória à autoridade de saúde sobre uma doença ou agravo ou evento de saúde pública, e deve ser realizada por médicos veterinários (Brasil, 2014). Apenas 50% (20/40) dos entrevistados sabiam que a LVC é uma doença de notificação compulsória. Ela deve ser realizada segundo a Instrução Normativa nº50 do MAPA (2013) nas Unidades Veterinárias Locais (UVLs) ou nos Escritórios de Atendimento à Comunidade, nas Sedes dos Serviços Veterinários Oficiais dos Estados (SVEs) ou nas Superintendências Federais de Agricultura (SFAs) (IN MAPA, 2013).

A notificação de doenças serve, entre outras coisas, para conhecer a prevalência das mesmas e tem importante papel no planejamento de ações de prevenção e controle pela vigilância epidemiológica (Brasil, 2014). Devido ao histórico polêmico do Estado, realizar a eutanásia em cães infectados por *L. infantum*, leva a desconfiança dos veterinários com o

serviço público de vigilância. Por receio a essa medida, os profissionais deixaram de notificar casos de LVC, o que impossibilita que seja estipulada a real prevalência da enfermidade no país, além de contribuir para a sua dispersão (Werneck, 2014). Por esse motivo, estima-se que a prevalência da doença no Brasil seja muito maior do que está documentado. Mais de um terço (35,5%) dos profissionais acharam que a enfermidade seria de notificação imediata. A notificação compulsória imediata (NCI) das doenças deve ocorrer no prazo máximo de 24h, diferente do que é instituído para a LVC que requer notificação compulsória mensal (NCS) (IN MAPA, 2013).

Na última parte da entrevista, ao serem questionados sobre quando a eutanásia é recomendada (obrigatória) no Brasil em animais com LVC, 65% (26/40) disseram ser quando o tutor não tem condições de arcar com o tratamento e 60% quando o cão não tiver tutor (Tabela 3). De fato, essas situações são passíveis de eutanásia dos animais infectados no país (Brasil, 2014; MAPA / MS, 2016), ambas devido aos custos do tratamento e do risco como reservatório que os animais não tratados representam (MAPA / MS, 2016).

O tratamento da LVC foi autorizado no Brasil a partir de 2016 (MAPA / MS, 2016) após o registro da miltefosina no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) mas é bastante oneroso para os tutores, portanto não está disponível para todos os animais. O tratamento da doença requer acompanhamento do cão, a fim de monitorar o parasitismo e *status* do animal através de exames, sendo de responsabilidade conjunta entre o médico veterinário e o tutor (MAPA / MS, 2016). No trabalho de Massia (2017), houve divergência de opiniões quanto às medidas de controle voltadas para o cão com LVC, sendo que alguns entrevistados sugeriram a eutanásia (22%) e outros o tratamento dos animais (33%).

Tabela 3: Dados obtidos das entrevistas com Médicos Veterinários que atuavam nos municípios de Pelotas e Rio Grande no RS, indenes para LVC sobre eutanásia na LVC.

Perguntas	Respostas	n	%
1. Quando a eutanásia é recomendada no Brasil?	Sempre	7	17,5
	Quando o tutor não tem condições de arcar com o tratamento	26	65
	Quando o cão não tem tutor	24	60
2. Quando a eutanásia é legalmente permitida no Brasil?	Após realização do teste rápido sorológico na clínica com resultado positivo	1	2,5
	Após resultado do teste sorológico de ELISA ou molecular com resultado positivo	34	85
	Após resultado do teste sorológico ELISA positivo	2	5
	Após teste de CAAF* do linfonodo positivo na clínica veterinária	3	7,5

Legenda: ELISA: *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*; CAAF – citologia aspirativa por agulha fina.

Fonte: o autor

Em nosso trabalho foi possível observar que 17,5% (7/40) dos participantes acreditavam que a eutanásia é obrigatória sempre nos casos de LVC, demonstrando a desinformação dos profissionais diante da possibilidade de tratar os animais positivos. A maioria dos participantes (85%) respondeu que a eutanásia é legalmente permitida somente após o teste confirmatório positivo, podendo ele ser o ELISA ou o PCR e apenas 5% respondeu corretamente segundo o protocolo oficial que é a partir do teste de ELISA da Bio-Manguinhos® positivo (MS, 2011; Brasil, 2014).

A prática da eutanásia em cães infectados, enquanto instrumento de política nacional de saúde pública, tem sua efetividade questionada diante de evidências científicas e dos crescentes números de transmissibilidade, letalidade e expansão geográfica da doença mesmo após o início da implementação (Werneck, 2014). Autores como Machado, Silva e Vilani (2016) relataram que mesmo quando foi realizada a eutanásia em cães soropositivos, não houve a redução da incidência da LVC devido à reposição de cães realizada pelos tutores que perderam seus animais eutanasiados, isso porque geralmente introduziam animais mais jovens e mais suscetíveis à infecção no mesmo ambiente onde havia a manutenção dos vetores da LVC.

A eutanásia, apesar de amplamente questionada (Costa, 2011; Zuben & Donalisio, 2016), continua sendo uma solução para cães soropositivos no Brasil dado que os animais não-humanos têm sua proteção considerada não apenas a partir de um aspecto individual, mas também do coletivo, sendo nesse sentido justificado pelo Estado a adoção de medidas que tenham como meta a contenção de doenças infecciosas pelo Poder Público, visando assegurar o bem-estar coletivo e a saúde humana (de Sá *et al.*, 2023). Outros pesquisadores, apesar de não defenderem a utilização do método como medida única no controle da LVC, alegam que esta ainda é necessária em países em desenvolvimento, como o Brasil (Romero & Boelaert, 2010). E entre os argumentos de quem é contra a medida inclui-se a ineficácia do método (Zuben & Donalisio, 2016); a não aceitação do tutor do animal (Silva *et al.*, 2017; Pinto & Vargas, 2017); a provável existência de outros reservatórios urbanos, como gatos, marsupiais e roedores (Roque & Jansen, 2014; Coura *et al.*, 2018); e a controvérsia em torno dos testes de diagnóstico disponíveis (Travi *et al.*, 2018).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considera-se que o conhecimento sobre questões relacionadas a epidemiologia, diagnóstico e eutanásia na LVC verificado por entrevistas individuais aos 40 veterinários que atuavam nos municípios de Pelotas-RS e Rio Grande-RS foi insuficiente, e demonstra o

desconhecimento sobre a doença e o fluxo diagnóstico nos laboratórios referência para LV. Os dados obtidos neste estudo demonstraram a necessidade de treinamento para os profissionais da saúde que atuam na região, para melhor compreensão do tema e preparo devido à expansão geográfica da doença no estado.

5 AGRADECIMENTOS

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

6 REFERÊNCIAS

AMANTE, J. F. A. A., SANTOS, A. R., SANTOS, B. M., MANTOVAN, K. B., JOAQUIM, S. F., LATOSINSKI, G. S., MENOZZI, B. D., HATAKA, A., LUCHEIS, S. B., VENTURINI, J., LANGONI, H. Marbofloxacin induces leishmanicidal activity and less inflammatory response in *Leishmania chagasi* infected macrophages. **Vet. zootec**, v. 27, p 001-011, 2020.

AZEVEDO, J. S. C.; ESMERALDINO, A. T.; ÁVILA, V. P. F.; WITZ., M. I.; FISCHER, C. D. B.; TARTAROTTI, A. L. Leishmaniose visceral canina autóctone no município de São Borja, Rio Grande do Sul, Brasil: relato de caso. **Veterinária em Foco**, v. 7, p. 52-61, 2009. Acesso em: Acesso em: jun. 2024.

BOECHAT, V. C.; MENDES JUNIOR, A. A. V.; MADEIRA, M. F.; FERREIRA, L. C.; FIGUEIREDO, F. B.; RODRIGUES, F. C. C.; OLIVEIRA, V. C.; OLIVEIRA, R. V. C.; MENEZES, R. C. Occurrence of *Leishmania infantum* and associated histological alterations in the genital tract and mammary glands of naturally infected dogs. **Parasitology Research**, 115:2371-2379, 2016.

BRASIL. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília, Ministério da Saúde, 2014. p.31. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmanio. Acesso em: ago. 2024.

CAMARGO, T. C., BONDAN, E. F. Awareness of visceral leishmaniasis in the population of Cotia (SP), Brazil, and participation of local veterinarians in the spread of preventive measures. **R. bras. Ci. Vet.**, v. 22, n. 1, p. 28-33, 2015.

CAMPLESI, A. C., CARDOSO, L., MORAES, P. C., SICONELLI, M., MOYA-ARAÚJO, C. F., BRUGER, K. P. VIGILÂNCIA EM SAÚDE—O PAPEL DO MÉDICO VETERINÁRIO DIANTE DA LEISHMANIOSE VISCERAL. **Ars Veterinaria**, 34(1), 14-19, 2018.

CEVS-RS; **Situação Epidemiológica**. Centro Estadual de Vigilância em Saúde do Rio Grande do Sul. Porto Alegre; 2023; Endereço eletrônico < <https://www.cevs.rs.gov.br/lvh-situacao-epidemiologica-dados>>

COSTA, Aguiaran das Neves. **Conhecimento dos agentes promotores de saúde que atuam na esfera pública e privada acerca da leishmaniose visceral no município de Araguaína - TO**. 2021. 95f. Dissertação. Mestrado. Universidade Federal do Tocantins. Araguaína, 2021

COSTA, C. H. N. How effective is dog culling in controlling zoonotic visceral leishmaniasis? a critical evaluation of the science, politics and ethics behind this public health policy. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, vol. 44, no. 2, pp. 232–242, 2011.

COURA, F. M.; PASSOS, S. K. P.; PELEGRINO, M. D. O. F. Serological, molecular, and microscopic detection of leishmania in cats (*Felis catus*) in Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, vol. 27, no. 4, p. 570–574, 2018.

DE SÁ, M. F. F., COSTA, A. F. P. A., PONTES, P. A. F. S. Aspectos biojurídicos de la eutanasia en animales infectados de leishmaniosis visceral canina (LVC): salud pública y bienestar animal. **VirtuaJus**, v. 8, n. 14, p. 141-154, 2023.

DIAS, Tábata Pereira. **Leishmaniose visceral na região sul do Brasil: pesquisa epidemiológica, educativa e screening de princípios ativos naturais frente a Leishmania spp**. 2021. 115f. Dissertação. Mestrado. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2021.

DINIZ, S.A.; MELO, M. S.; BORGES, A. M.; BUENO, R.; REIS, B. P.; TAFURI, W. L.; NASCIMENTO, E. F.; SANTOS, R. L. Genital lesions associated with visceral leishmaniasis and shedding of Leishmaniasp. in the semen of naturally infected dogs. **Veterinary Pathology Online**, 42(5): 650-658, 2005.

DONATO, L. E., DE LIMA JUNIOR, F. E. F., ALBUQUERQUE, R., GOMES, M. L. S. Surveillance and control reservoirs of visceral leishmaniasis in Brazil: technical and legal aspects. **Rev. Educ. Contin. CRMV-SP (Impr.)**; 11(2): 18-23, 2013.

FIGUEIREDO, F. B.; VASCONCELOS, T. C. B.; MADEIRA, M. F.; MENEZES, R. C. *et al.* Validation of the Dual-path Platform chromatographic immunoassay (DPP® CVL rapid test) for the serodiagnosis of canine visceral leishmaniasis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 113, p. e180260, 2018.

FRANÇA, A. O.; POMPILIO, M. A.; PONTES, E. R. J. C.; OLIVEIRA, M. P. *et al.* Leishmanian infection in blood donors: a new challenge in leishmaniasis transmission? **PLoS ONE**, 13(6): 1-13, 2018.

GRIMALDI, G.; TEVA, A.; FERREIRA, A.L.; DOS SANTOS, C.B.; PINTO, I.D.S. DEAZEVEDO, C. T.; FALQUETO, A. Evaluation of a novel chromatographic immunoassay based on Dual-Path Platform technology (DPP® CVL rapid test) for the serodiagnosis of canine visceral leishmaniasis. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**. v.106, n.1, p.54–59, 2012. Disponível em: Acesso em: mai. 2019.

IN MAPA – **Instrução Normativa Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. nº 50, 23 de setembro de 2013**. IN Lista das Doenças Animais de Notificação Obrigatória ao Serviço Veterinário Oficial Brasileiro. Diário da União, Brasília, DF, 23 de setembro de 2013.

LAURENTI, M.D.; ROSSI, C.N.; MATTA, V.L.R.; TOMOKANE, T.Y.; CORBETT, C.E.P.; SECUNDINO, N.F.C.; PIMENTA, P.F.P.; MARCONDES, M.; 2013. Asymptomatic dogs are highly competent to transmit *Leishmania (Leishmania) infantum* chagasi to the natural vector. **Veterinary Parasitology**. v. 196, n. 3-4, p. 296-300, 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23562649/>> Acesso em: fev. 2024.

LAURENTI, M. D. Correlação entre o diagnóstico parasitológico e sorológico na leishmaniose visceral americana canina. BEPA. **Boletim Epidemiológico Paulista (Online)**, v. 6, n. 67, p. 13-23, 2009. Disponível em: <<https://docs.bvsalud.org/biblioref/ses-sp/2009/ses-18617/ses-18617-368.pdf>> Acesso em: jan. 2024.

MACHADO, C.J. S.; SILVA, E. G.; VILANI, R. M. O uso de um instrumento de política de saúde pública controverso: a eutanásia de cães contaminados por leishmaniose no Brasil. **Revista Saúde Soc.**, São Paulo, v.25, n.1, p.247- 258, 2016.

MAPA / MS – Ministério da Agricultura, pecuária e abastecimento / Ministério da Saúde. **Nota Técnica Conjunta nº 001/2016 MAPA/MS**. Brasília: MAPA/MS, 2016, 2 p.

MAROLI, M.; PENNISI, M. G.; DI MUCCIO, T.; KHOURY, C.; GRADONI, L.; GRAMICCIA, M. Infection of sandflies by a cat naturally infected with *Leishmania infantum*. **Veterinary Parasitology**. 145(3-4):357-60; 2007.

MASSIA, Laura Ilarraz. **Leishmaniose visceral: Avaliação do conhecimento dos agentes de saúde pública em Uruguaiana (RS)**. 2017. 85f. Dissertação. Mestrado. Universidade Federal do Pampa, Uruguaiana, 2017.

MS - MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Nota Técnica Conjunta nº 01/2011- Esclarecimentos sobre substituição do protocolo diagnóstico da leishmaniose visceral canina (LVC) –CGDT-CGLAB/DEVIT**. Diário Oficial da União Brasília, 2011. Disponível em: <http://www.sgc.goias.gov.br/upload/arquivos/2012-05/nota-tecnica-no.-1-2011_cgdt1_cgdt1_lvc.pdf> Acesso em: mai. 2024.

NELSON, R. W., & COUTO, C. G. **Small Animal Internal Medicine-E-Book**. Elsevier Health Sciences. 2019.

REITHINGER, R.; QUINNELL, R.J.; ALEXANDER, B.; DAVIES, C.R. Rapid detection of *Leishmania infantum* infection in dogs: comparative study using a immunochromatographic dipstick test, enzyme-linked immunosorbent assay and PCR. **Journal of Clinical Microbiology**. v.10, n.7, p-2352-2356, 2002; Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC120577/>. Acesso em: mar. 2024.

ROMERO, GÁS; BOELAERT, M. Controle da leishmaniose visceral na América Latina – Uma revisão sistemática. **PLoS Negl. Tropa. Dis.** 2010, 4, e584.

ROQUE, A. L. R.; JANSEN, A. M. Wild and synanthropic reservoirs of leishmania species in the Americas. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, vol. 3, no. 3, pp. 251–262, 2014.

SALANT, H.; NACHUM-BIALA, Y.; FEINMESSER, B.; PERELMUTTER, M.; BANETH G. Early onset of clinical leishmaniosis in a litter of pups with evidence of in utero transmission. **Parasites & Vectors**, 14(136): 1-9, 2021.

SILVA, F. L.; OLIVEIRA, R. G.; TEANE, M. A.; SILVA, M. et al.. Venereal transmission of canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, 160(1-2): 55-59, 2009.

SILVA, L.C.; ASSIS, V. P.; RIBEIRO, V. M.; TAFURI, W. L. *et al.* Detection of *Leishmania infantum* in the smegma of infected dogs. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 66(3): 731-736, 2014.

SILVA, S. T. P. D.; MARQUES, L. D. F. V. ;LAMOUNIER, K. C. C. ; CASTRO, J. M. D. ; BORJA-CABRERA, G. P. Leishmaniose visceral humana: reflexões éticas e jurídicas acerca do controle do reservatório canino no Brasil. **Revista de Bioética Y Derecho**, vol. 39, pp. 135–151, 2017.

TOEPP, A.J. SCHAUT, G. R.; SCOTT, D. B.; MATHUR, D.; BERENS, A. J.; PETERSEN, C. A. *Leishmania* incidence and prevalence in U.S. hunting hounds maintained via vertical transmission. **Veterinary Parasitology**, 10: 75-81, 2017.

TRAVI, B. L.; CORDEIRO-DA-SILVA, A.; DANTAS-TORRES, F.; MIRO, G. Canine visceral leishmaniasis: diagnosis and management of the reservoir living among us. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, vol. 12, no. 1, p. e0006082, 2018.

ZUBEN, A. P. B. V.; DONAL’ISIO, M. R. Dificuldades na execução das diretrizes do programa de vigilância e controle da leishmaniose visceral em grandes municípios brasileiros. **Cadernos de Saúde Pública**, vol. 32, no. 6, 2016.

WERNECK G. L. Visceral leishmaniasis in Brazil: rationale and concerns related to reservoir control. **Rev Saúde Pública** 2014;48(5):851-855.

WERNECK, G. L., FIGUEIREDO, F. B., & CRUZ, M. D. S. P. E. Impact of 4% Deltamethrin-Impregnated Dog Collars on the Incidence of Human Visceral Leishmaniasis: A Community Intervention Trial in Brazil. **Pathogens**, 13(2), 135. 2024.

5. Considerações Finais

Diante do exposto, os municípios de Pelotas, Rio Grande e Bagé requerem atenção dos órgãos oficiais quanto à presença de animais sororreagentes para LVC segundo o protocolo vigente do MS. Possíveis fatores predisponentes para a implantação da enfermidade na região incluem o intenso fluxo migratório de pessoas e animais sem controle sanitário devido aos pólos universitários, porto e regiões turísticas.

O conhecimento sobre questões relacionadas a epidemiologia, diagnóstico e eutanásia no contexto da LVC, verificado por entrevistas individuais a 40 Médicos Veterinários que atuavam nos municípios de Pelotas-RS e Rio Grande-RS foi insuficiente. Os dados obtidos neste estudo demonstraram a necessidade de treinamento para os profissionais da saúde que atuam na região para melhor compreensão do tema e preparo devido à expansão geográfica da doença.

6. Referências

AMANTE, J. F. A. A., SANTOS, A. R., SANTOS, B. M., MANTOVAN, K. B., JOAQUIM, S. F., LATOSINSKI, G. S., MENOZZI, B. D., HATAKA, A., LUCHEIS, S. B., VENTURINI, J., LANGONI, H. Marbofloxacin induces leishmanicidal activity and less inflammatory response in *Leishmania chagasi* infected macrophages. **Vet. zootec**, v. 27, p 001-011, 2020.

ANJOS, C. B.; FIGUEIREDO NETO, A. B.; PEREIRA, L. R. M.; VALLANDRO, M. J.; LUCENA, R. F.; AMORA, S.S.A. A importância do Médico Veterinário na vigilância em saúde. **Revista CFMV, Brasília/DF**, ano 20, n. 63, p. 12-14, 2014

ANJOS, C. B.; FIGUEIREDO NETO, A. B.; PEREIRA, L. R. M.; VALLANDRO, M. J.; LUCENA, R. F.; AMORA, S.S.A. Doenças emergentes e reemergentes. Como se antecipar? **Revista CFMV, Brasília/DF**, ano 21, n. 64, p. 12-15, 2015.

AZEVEDO, J. S. C.; ESMERALDINO, A. T.; ÁVILA, V. P. F.; WITZ., M. I.; FISCHER, C. D. B.; TARTAROTTI, A. L. Leishmaniose visceral canina autóctone no município de São Borja, Rio Grande do Sul, Brasil: relato de caso. **Veterinária em Foco**, v. 7, p. 52-61, 2009. Acesso em: jun. 2024.

BANETH, G.; KOUTINAS, F. A.; GALLEGO, L. S. et al. Canine leishmaniosis—new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. **Trends in parasitology**, v. 24, n. 7, p. 324-330, 2008.

BOECHAT, V. C.; MENDES JUNIOR, A. A. V.; MADEIRA, M. F.; FERREIRA, L. C.; FIGUEIREDO, F. B.; RODRIGUES, F. C. C.; OLIVEIRA, V. C.; OLIVEIRA, R. V. C.; MENEZES, R. C. Occurrence of *Leishmania infantum* associated histological alterations in the genital tract and mammary glands of naturally infected dogs. **Parasitology Research**, 115:2371-2379, 2016.

BOTEGA, A. M.; NETO, M. G.; MIODUTZKI, G. T.; ARAUJO, M. J.; MARINHO, M. Evaluation of the cross-reaction between *Leishmania* spp and *T. cruzi* by structural equation model. **Peer Review**, v. 5, n. 15, p. 11-24, 2023. Disponível em: <https://peerw.org/index.php/journals/article/view/724>. Acesso em 29 jan. 2024.

BORN, Lucas Corrêa. **Caracterização ecoepidemiológica da Leishmaniose Visceral Americana no Município de Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil**. 2022. Dissertação. Mestrado. Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, RJ. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. v. 1, Brasília: Ministério da Saúde, 2014. Acessado em 05 ago. 2023.

Online. Disponível em:

https://bvsm.sau.de.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmanios_e_visceral_1edicao.pdf. Acesso em 20 jan. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Nota Técnica Conjunta N.º 01/2011 –**

CGDTCGLAB/DEVIT/SVS/MS. Brasília: Ministério da Saúde, 2011.

CAMARGO, T. C., BONDAN, E. F. Awareness of visceral leishmaniasis in the population of Cotia (SP), Brazil, and participation of local veterinarians in the spread of preventive measures. **R. bras. Ci. Vet.**, v. 22, n. 1, p. 28-33, 2015.

CAMPLESI, A. C., CARDOSO, L., MORAES, P. C., SICONELLI, M., MOYA-ARAUJO, C. F., BRUGER, K. P. VIGILÂNCIA EM SAÚDE—O PAPEL DO MÉDICO VETERINÁRIO DIANTE DA LEISHMANIOSE VISCERAL. **Ars Veterinaria**, 34(1), 14-19, 2018.

CEVS - Centro Estadual de Vigilância em Saúde. Atualizações sobre a Vigilância Epidemiológica da leishmaniose visceral no Rio Grande do Sul. **NOTA**

INFORMATIVA DVE/CEVS nº 14/2023. 2023. Disponível em:

<https://www.cevs.rs.gov.br/upload/arquivos/202307/05104121-nota-tecnica-lvh.pdf>. Acesso em 9 jan. 2024.

CEVS - Centro Estadual de Vigilância em Saúde. **Situação epidemiológica da Leishmaniose Visceral**. 2022. Disponível em: <https://www.cevs.rs.gov.br/lvh-situacao-epidemiologica-dados>. Acesso em: 13 jan. 2024

CEVS - Centro Estadual de Vigilância em Saúde; **Situação Epidemiológica**. Centro Estadual de Vigilância em Saúde do Rio Grande do Sul. Porto Alegre; 2023; Endereço eletrônico < <https://www.cevs.rs.gov.br/lvh-situacao-epidemiologica-dados> >

COELHO, W. M. D.; BUZETTI, W. A. S.; BRESCIANI, K. D. S. Histochemical and molecular evaluation of the prevalence of *Leishmania* spp. in hematophagous insects. **Parasite epidemiology and control**, v. 1, n. 2, p. 85-89, 2016.

COELHO, W. M. D. BRESCIANI, K. D. S.; COÊLHO, J. C. A; ANJOS, L. A. *et al.* Mosquitos *Aedes aegypti* são vetores potenciais de leishmaniose? –Relato de caso. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.** v. 54, n. 4, p. 416-419, 2017

CORTÊS, J.A. Vigilância epidemiológica como instrumento essencial para a sanidade animal e a saúde pública. **Revista de educação continuada CRMV-SP**, v. 5, n. 1, p. 109-123, 2002.

COSTA, Aguiaran das Neves. **Conhecimento dos agentes promotores de saúde que atuam na esfera pública e privada acerca da leishmaniose visceral no município de Araguaína - TO**. 2021. 95f. Dissertação. Mestrado. Universidade Federal do Tocantins. Araguaína, 2021

COSTA, C. H. N. How effective is dog culling in controlling zoonotic visceral leishmaniasis? a critical evaluation of the science, politics and ethics behind this

public health policy. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, vol. 44, no. 2, pp. 232–242, 2011.

COURA, F. M.; PASSOS, S. K. P.; PELEGRINO, M. D. O. F. Serological, molecular, and microscopic detection of leishmania in cats (*Felis catus*) in Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, vol. 27, no. 4, p. 570–574, 2018.

COURA-VITAL, W.; MARQUES, M. J.; VELOSO, V. M, et al. Prevalence and factors associated with *Leishmania infantum* infection of dogs from an urban area of Brazil as identified by molecular methods. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 5, n. 8, p. e1291, 2011.

DA SILVA, D. A.; MADEIRA, M. F.; ABRANTES, T. R.; FILHO, C. J. DE L. B.; FIGUEIREDO, F. B. Assessment of serological tests for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis. **The Veterinary Journal**, v. 195, n. 2, p. 252-253, 2013.

DE BLAS, I. et al. **WIN EPISCOPE 2.0**. Facultad de Veterinaria Zaragoza: Wageningen University: University of Edinburgh, 2000.

DE LIMA, R. G.; MENDONÇA, T. M.; MENDES, T. DA S. et al. Perfil epidemiológico da leishmaniose visceral no Brasil, no período de 2010 a 2019. **Revista eletrônica acervo saúde**, v. 13, n. 4, p. e6931-e6931, 2021.

DE SÁ, M. F. F., COSTA, A. F. P. A., PONTES, P. A. F. S. Aspectos biojurídicos de la eutanasia en animales infectados de leishmaniosis visceral canina (LVC): salud pública y bienestar animal. **VirtuaJus**, v. 8, n. 14, p. 141-154, 2023.

DIAS, Tábata Pereira. **Leishmaniose visceral na região sul do Brasil: pesquisa epidemiológica, educativa e screening de princípios ativos naturais frente a *Leishmania spp.*** 2021. 115f. Dissertação. Mestrado. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2021.

DIAS, T. P.; VERSTEG, N.; JARFIM, G. C.; BORGES, L. V.; LEAL, K. B.; GRESSLER, R. P.; FIGUEIREDO, F. B.; CLEFF, M. B. Leishmaniose visceral na região sul do Brasil: análise crítica frente a evolução epidemiológica. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 5, p. e45711528361-e45711528361, 2022

DINIZ, S.A.; MELO, M. S.; BORGES, A. M.; BUENO, R.; REIS, B. P.; TAFURI, W. L.; NASCIMENTO, E. F.; SANTOS, R. L. Genital lesions associated with visceral leishmaniasis and shedding of *Leishmania* sp. in the semen of naturally infected dogs. **Veterinary Pathology Online**, 42(5): 650-658, 2005.

DONATO, L. E., DE LIMA JUNIOR, F. E. F., ALBUQUERQUE, R., GOMES, M. L. S. Surveillance and control reservoirs of visceral leishmaniasis in Brazil: technical and legal aspects. **Rev. Educ. Contin. CRMV-SP (Impr.)**; 11(2): 18-23, 2013.

FERNANDES, A. R. F.; PIMENTA, C. L. R. M.; VIDAL, I. F.; OLIVEIRA, G. C. et al. Risk factors associated with seropositivity for *Leishmania spp.* and *Trypanosoma*

cruzi in dogs in the state of Paraiba, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 25, p. 90-98, 2016.

FIGUEIREDO, F. B.; VASCONCELOS, T. C. B.; MADEIRA, M. F.; MENEZES, R. C. *et al.* Validation of the Dual-path Platform chromatographic immunoassay (DPP® CVL rapid test) for the serodiagnosis of canine visceral leishmaniasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 113, p. e180260, 2018.

FORTNEY, W. D. Implementing a successful senior/geriatric health care program for veterinarians, veterinary technicians, and office managers. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 42, n. 4, p. 823-834, 2012.

FRANÇA, A. O.; POMPILIO, M. A.; PONTES, E. R. J. C.; OLIVEIRA, M. P. *et al.* Leishmanian infection in blood donors: a new challenge in leishmaniasis transmission? **PLoS ONE**, 13(6): 1-13, 2018.

GRIMALDI, G.; TEVA, A.; FERREIRA, A.L.; DOS SANTOS, C.B.; PINTO, I.D.S. DEAZEVEDO, C. T.; FALQUETO, A. Evaluation of a novel chromatographic immunoassay based on Dual-Path Platform technology (DPP® CVL rapid test) for the serodiagnosis of canine visceral leishmaniasis. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**. v.106, n.1, p.54–59, 2012. Disponível em: Acesso em: mai. 2019.

GIUNCHETTI, R. C.; MARTINS-FILHO, O. A.; CARNEIRO, C. M.; MAYRINK, W.; MARQUES, M. J.; TAFURI, W. L.; REIS, A. B. Histopathology, parasite density and cell phenotypes of the popliteal lymph node in canine visceral leishmaniasis. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 121, n. 1-2, p. 23-33, 2008. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17723246/>>

IBGE. No Titl [Internet]. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. 2022. Available from: <http://www.ibge.gov.br>.

IKEDA-GARCIA, F. A.; LOPES, R. S.; MARQUES, F. J. *et al.* Clinical and parasitological evaluation of dogs naturally infected by Leishmania (Leishmania) chagasi submitted to treatment with meglumine antimoniate. **Veterinary Parasitology**, v. 143, n. 3-4, p. 254-259, 2007.

IN MAPA – **Instrução Normativa Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. nº 50, 23 de setembro de 2013**. IN Lista das Doenças Animais de Notificação Obrigatória ao Serviço Veterinário Oficial Brasileiro. Diário da União, Brasília, DF, 23 de setembro de 2013.

KAWAMURA, Takao. Interpretação de um teste sob a visão epidemiológica: eficiência de um teste. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 79, p. 437-441, 2002.

KILLICK-KENDRICK, R. The life-cycle of Leishmania in the sandfly with special reference to the form infective to the vertebrate host. **Annales de Parasitologie humaine et comparée**, v. 65, p. 37-42, 1990.

KLAUSNER, J. **Banfield Pet Hospital state of pet health: 2013 report**. Banfield Pet Hospital, *Portland (OR)*. 2013.

LARA-SILVA, F. O.; BARATA, R. A.; MICHALSKY, E. M.; FERREIRA, E. C. et al. *Rattus norvegicus* (Rodentia: Muridae) infected by *Leishmania* (*Leishmania*) *infantum* (syn. *Le. chagasi*) in Brazil. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.

LAURENTI, M. D. DE SANTANA, M. V.; TOMOKANE, T. Y. et al. Comparative evaluation of the DPP® CVL rapid test for canine serodiagnosis in area of visceral leishmaniasis. **Veterinary parasitology**, v. 205, n. 3-4, p. 444-450, 2014.

LAURENTI, M.D.; ROSSI, C.N.; MATTA, V.L.R.; TOMOKANE, T.Y.; CORBETT, C.E.P.; SECUNDINO, N.F.C.; PIMENTA, P.F.P.; MARCONDES, M. Asymptomatic dogs are highly competent to transmit *Leishmania* (*Leishmania*) *infantum chagasi* to the natural vector. **Veterinary Parasitology**. v. 196, n. 3-4, p. 296-300, 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23562649/>> Acesso em: fev. 2024.

LAURENTI, M. D. Correlação entre o diagnóstico parasitológico e sorológico na leishmaniose visceral americana canina. BEPA. **Boletim Epidemiológico Paulista (Online)**, v. 6, n. 67, p. 13-23, 2009. Disponível em: <<https://docs.bvsalud.org/biblioref/ses-sp/2009/ses-18617/ses-18617-368.pdf>> Acesso em: jan. 2024.

MACHADO, C.J. S.; SILVA, E. G.; VILANI, R. M. O uso de um instrumento de política de saúde pública controverso: a eutanásia de cães contaminados por leishmaniose no Brasil. **Revista Saúde Soc.**, São Paulo, v.25, n.1, p.247- 258, 2016.

MAIA, C. & CAMPINO, L. Methods for diagnosis of canine leishmaniasis and immune response to infection. **Veterinary parasitology**, v. 158, n. 4, p. 274-287, 2008.

MAPA / MS – Ministério da Agricultura, pecuária e abastecimento / Ministério da Saúde. **Nota Técnica Conjunta nº 001/2016 MAPA/MS**. Brasília: MAPA/MS, 2016, 2 p.

MAROLI, M.; PENNISI, M. G.; DI MUCCIO, T.; KHOURY, C.; GRADONI, L.; GRAMICCIA, M. Infection of sandflies by a cat naturally infected with *Leishmania infantum*. **Veterinary Parasitology**. 145(3-4):357-60; 2007.

MARCONDES, C. B., PIRMEZ, C., SILVA, E. S, LAURENTINO-SILVA, V., STEINDEL, M., SANTOS, A.J., SMANIOTTO, H.& DONETTO, A. Levantamento de leishmaniose visceral em cães de Santa Maria e municípios próximos, Estado do Rio Grande do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 36 (4), 499-501. 2003. doi: <https://doi.org/10.1590/S0037-86822003000400011>

MARCONDES, M., ROSSI, C.N. (2013) Leishmaniose visceral no Brasil. **Revista Brasileira de Pesquisa Veterinária e Zootecnia**, 50, pp. 341-352.

MARZOCHI, M. C. DE A.; COUTINHO, S. G.; SABROZA, P. C. et al. Leishmaniose visceral canina no Rio de Janeiro-Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 1, p. 432-446, 1985.

MASSIA, Laura Ilarraz. **Leishmaniose visceral: Avaliação do conhecimento dos agentes de saúde pública em Uruguiana (RS)**. 2017. 85f. Dissertação. Mestrado. Universidade Federal do Pampa, Uruguiana, 2017.

MENDONÇA, I. L.; BATISTA, J. F.; SCHALLING, H. et al. The performance of serological tests for *Leishmania infantum* infection screening in dogs depends on the prevalence of the disease. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 59, p. e39, 2017.

MICHELIN, A. de F.; MACIEL, M. O. DOS S.; OKAJIMA, M. et al. Factors associated with positivity for canine visceral leishmaniosis in an endemic area in Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 12, p. 13-16, 2018.

MONTEIRO, S. G.; STAINKI, D. R.; DALMOLIN, F. et al. Detecção de *Leishmania infantum* em cão no município de Uruguiana, RS: uma contribuição para a discussão das leishmanioses na região sul do Brasil. **Veterinária e Zootecnia**, v. 17, n. 4, p. 497-502, 2010.

MS - MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Nota Técnica Conjunta nº01/2011- Esclarecimentos sobre substituição do protocolo diagnóstico da leishmaniose visceral canina (LVC) –CGDT-CGLAB/DEVIT**. Diário Oficial da União Brasília, 2011. Disponível em: <http://www.sgc.goias.gov.br/upload/arquivos/2012-05/nota-tecnica-no.-1-2011_cglab_cgdt1_lvc.pdf> Acesso em: mai. 2024.

MS - Ministério da Saúde. **Nota técnica conjunta da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde e da Secretaria de Estado da Saúde do Rio Grande do Sul sobre a situação da Leishmaniose Visceral na fronteira do Estado do Rio Grande do Sul com a Argentina**. COVEV/CGDT/DEVEP/SVS/MS. p. 1-3, 2010.

MS - MINISTÉRIO DA SAÚDE. Nota Técnica Conjunta nº01/2011- Esclarecimentos sobre substituição do protocolo diagnóstico da leishmaniose visceral canina (LVC) – CGDT-CGLAB/DEVIT. Brasília: **Diário Oficial da União**. 2011.

NELSON, R. W., & COUTO, C. G. **Small Animal Internal Medicine-E-Book**. Elsevier Health Sciences. 2019.

PASQUALI, A. K. S.; BAGGIO, R. A.; BOEGER, W. A. et al. Dispersion of *Leishmania (Leishmania) infantum* in central-southern Brazil: Evidence from an integrative approach. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 8, p. 1-20, 2019.

PALTRINIERI, S.; SOLANO-GALLEGO, L.; FONDATI, A. et al. Guidelines for diagnosis and clinical classification of leishmaniasis in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 236, n. 11, p. 1184-1191, 2010.

POCAI, E., FROZZA, L., HEADLEY, S. A., GRAÇA, D. L.. Leishmaniose Visceral (Calazar). Cinco casos em cães de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil. **Ciencia Rural**, 28 (3), 501-505. 1998. doi: <https://doi.org/10.1590/S0103-84781998000300025>

PREFEITURA DE PELOTAS. Prefeitura de Pelotas, 2024. Site com dados referentes ao município de Pelotas, RS. Disponível em: <<https://www.pelotas.com.br/cidade/dados-gerais>>

PREFEITURA DE RIO GRANDE. Prefeitura de Pelotas, 2024. Site com dados referentes ao município de Rio Grande, RS. Disponível em: <<https://riogrande.atende.net/cidadao>>

PREFEITURA DE CAPÃO DO LEÃO. Prefeitura de Pelotas, 2024. Site com dados referentes ao município de Capão do Leão, RS. Disponível em: <<https://www.capaodoleao.rs.gov.br/portal/paginas-dinamicas-categoria/1/sobre-capao-do-leao>>

RATZLAFF, F. R.; FERNANDES, F. D'A.; OSMARI, V. et al. Prevalence and molecular detection of *Leishmania* spp. in bats from Rio Grande do Sul state, Brazil. **Parasitology Research**, v. 121, n. 11, p. 3193-3202, 2022.

RÊGO, F. D.; SOUZA, G. D.; MIRANDA, J. B. et al. Potential vectors of leishmania parasites in a recent focus of visceral leishmaniasis in neighborhoods of porto Alegre, State of Rio Grande do Sul, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 57, n. 4, p. 1286-1292, 2020.

REITHINGER, R.; QUINNELL, R.J.; ALEXANDER, B.; DAVIES, C.R. Rapid detection of *Leishmania infantum* infection in dogs: comparative study using a immunochromatographic dipstick test, enzyme-linked immunosorbent assay and PCR. **Journal of Clinical Microbiology**. v.10, n.7, p-2352-2356, 2002; Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC120577/>. Acesso em: mar. 2024.

RIBEIRO, V. M.; MIRANDA, J. B.; MARCELINO, A. P. et al. Performance of different serological tests in the diagnosis of natural infection by *Leishmania infantum* in dogs. **Veterinary parasitology**, v. 274, p. 108920, 2019.

ROMBOLÀ, P.; BARLOZZARI, G.; CARVELLI, A. et al. Seroprevalence and risk factors associated with exposure to *Leishmania infantum* in dogs, in an endemic Mediterranean region. **PLoS One**, v. 16, n. 1, p. e0244923, 2021.

ROMERO, GÁS; BOELAERT, M. Controle da leishmaniose visceral na América Latina – Uma revisão sistemática. **PLoS Negl. Tropa. Dis.** 2010, 4, e584.

ROQUE, A. L. R.; JANSEN, A. M. Wild and synanthropic reservoirs of leishmania species in the Americas. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, vol. 3, no. 3, pp. 251–262, 2014.

SALANT, H.; NACHUM-BIALA, Y.; FEINMESSER, B.; PERELMUTTER, M.; BANETH G. Early onset of clinical leishmaniosis in a litter of pups with evidence of in utero transmission. **Parasites & Vectors**, 14(136): 1-9, 2021.

SALOMÓN, O. D.; SINAGRA, A.; NEVOT, M. C. et al. First visceral leishmaniasis focus in Argentina. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, p. 109-111, 2008.

SALOMÓN, O. D.; BASMAJDIAN, Y.; FERNANDEZ, M.S. et al. *Lutzomyia longipalpis* in Uruguay: the first report and the potential of visceral leishmaniasis transmission. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 106, p. 381-382, 2011.

SCHUBACH, E.Y. P; FIGUEIREDO, F. B.; ROMERO, G. A. S. Accuracy and reproducibility of a rapid chromatographic immunoassay for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis in Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 108, n. 9, p. 568-574, 2014.

SERGEANT, E. S. G. Epitools epidemiological calculators. **Ausvet Pty Ltd**, 2018.

SILVA, F. L.; OLIVEIRA, R. G.; TEANE, M. A.; SILVA, M. et al.. Venereal transmission of canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, 160(1-2): 55-59, 2009.

SILVA, L.C.; ASSIS, V. P.; RIBEIRO, V. M.; TAFURI, W. L. *et al.* Detection of *Leishmania infantum* in the smegma of infected dogs. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 66(3): 731-736, 2014.

SILVA, S. T. P. D.; MARQUES, L. D. F. V. ;LAMOUNIER, K. C. C. ; CASTRO, J. M. D. ; BORJA-CABRERA, G. P. Leishmaniose visceral humana: reflexões éticas e jurídicas acerca do controle do reservatório canino no Brasil. **Revista de Bioética Y Derecho**, vol. 39, pp. 135–151, 2017.

SOLANO-GALLEGO, L.; KOUTINAS, A.; MIRÓ, G.; CARDOSO, L.; PENNISI, M.G.; FERRER, L.; BORDEAU, G.O.; BANETH, G. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. **Veterinary Parasitology**, v. 165, n. 1-2, p. 1-18, 2009. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19559536/>>

SOUZA, G. D.; GONÇALVES, B. R. D.; FLORES, C. et al. Monitoramento entomológico dos flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) no município de Porto Alegre. RS. **Bol. Epidemiológico**, v. 39, p. 5-6, 2008.

STEINDEL, M., MENIN, A., EVANGELISTA, T., STOCO, P.H., MARLOW, M.A., FLEITH, R.C. & GRISARD, E. C. Outbreak of autochthonous canine visceral leishmaniasis in Santa Catarina, Brazil. **Pesquisa Vet. Bras.** v. 33, n. 4. 2013

THRALL, M. A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. Editora Roca, 2007.

TOEPP, A.J. SCHAUT, G. R.; SCOTT, D. B.; MATHUR, D.; BERENS, A. J.; PETERSEN, C. A. *Leishmania* incidence and prevalence in U.S. hunting hounds maintained via vertical transmission. **Veterinary Parasitology**, 10: 75-81, 2017.

TRAVI, B. L.; CORDEIRO-DA-SILVA, A.; DANTAS-TORRES, F.; MIRO, G. Canine visceral leishmaniasis: diagnosis and management of the reservoir living among us. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, vol. 12, no. 1, p. e0006082, 2018.

TRENCH, F. J. P.; RITT, A. G.; GEWEHR, T. A.; LEANDRO, A. S.; CHIYO, L.; GEWEHR, M. R.; RIPOLI, M.; BISETTO, A.; POZZOLO, E. M.; THOMAZ-SOCCOL, V. First Report of Autochthonous Visceral Leishmaniasis in Humans in Foz Do Iguaçu, Paraná State, Southern Brazil. **Ann Clin Cytol Pathol** v. 2, n. 6, p. 1041, 2016. Disponível em: <<https://www.jscimedcentral.com/ClinicalCytology/clinicalcytology-2-1041.pdf>>

VELOSO, E. C. M.; NEGREIROS, A. DA S.; SILVA, J. P. et al. Socio-economic and environmental factors associated with the occurrence of canine infection by *Leishmania infantum* in Teresina, Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 24, p. 100561, 2021.

WERNECK, G. L. Visceral leishmaniasis in Brazil: rationale and concerns related to reservoir control. **Revista de saude publica**, v. 48, p. 851-856, 2014.

WERNECK, G. L.; FIGUEIREDO, F. B.; CRUZ, M. do S. P. e. Impact of 4% Deltamethrin-Impregnated Dog Collars on the Incidence of Human Visceral Leishmaniasis: A Community Intervention Trial in Brazil. **Pathogens**, v. 13, n. 2, p. 135, 2024.

WRIGHT, I.; JONGEIAN, F.; MARCONDES, M. et al. Parasites and vector-borne diseases disseminated by rehomed dogs. **Parasites & vectors**, v. 13, p. 1-4, 2020.

ZANETTE, M. F.; LIMA, V. M. F. DE L.; LAURENTI, M. D. et al. Serological cross-reactivity of *Trypanosoma cruzi*, *Ehrlichia canis*, *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Babesia canis* to *Leishmania infantum* *chagasi* tests in dogs. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 1, p. 105-107, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24603745/>. Acesso em 05 jan. 2024.

ZUBEN, A. P. B. V.; DONAL'ISIO, M. R. Dificuldades na execução das diretrizes do programa de vigilância e controle da leishmaniose visceral em grandes municípios brasileiros. **Cadernos de Saúde Pública**, vol. 32, no. 6, 201. 2016.

Anexos

Anexo A - Documento da Comissão de Ética e Experimentação Animal

21/09/2022 13:59

SEI/UFPEL - 0790630 - Parecer



PARECER Nº
PROCESSO Nº

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
148/2019/CEEA/REITORIA
23110.034722/2019-34

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada **“Inquérito Soroepidemiológico da presença de *Leishmania infantum* em cães e potencial anti-leishmania de extratos vegetais.”**, registrada com o nº 23110.034722/2019-34, sob a responsabilidade de **Marlete Brum Cleff** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e recebeu parecer **FAVORÁVEL** a sua execução pela Comissão de Ética em Experimentação Animal, em reunião de **13 de novembro de 2019**.

Finalidade	(x) Pesquisa () Ensino
Vigência da autorização	20/11/2019
Espécie/linhagem/raça	Canina
Nº de animais	400
Idade	Variável
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem	Animais atendidos na rotina clínica do HCV e do Ambulatório Ceval, e provenientes de Convênios como Ecosul e do canil municipal de Pelotas que são encaminhados ao HCV - UFPEL

Código para cadastro nº CEEA 34722-2019

M.V. Dra. Anelize de Oliveira Campello Felix

Presidente da CEEA



Documento assinado eletronicamente por **ANELIZE DE OLIVEIRA CAMPELLO FELIX**, Médico Veterinário, em 20/11/2019, às 13:52, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufpel.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0790630** e o código CRC **35CC6A75**.