

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO – UFPE

INSTITUTO KEIZO ASAMI - İLKA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA APLICADA À SAÚDE - PPGBAS

**DINÂMICA DA TRANSMISSÃO DA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA NO
MUNICÍPIO DE GOIANA/PE: IDENTIFICAÇÃO DE CASOS,
AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE *Leishmania infantum* EM *Lutzomyia spp.* E
DETERMINAÇÃO DOS PONTOS DE RISCO PARA A TRANSMISSÃO
DA DOENÇA**

SERGIO FLORÊNCIO DA COSTA

Recife, 2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO – UFPE
INSTITUTO KEIZO ASAMI - iLIKA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA APLICADA À SAÚDE - PPGBAS

**DINÂMICA DA TRANSMISSÃO DA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA NO
MUNICÍPIO DE GOIANA/PE: IDENTIFICAÇÃO DE CASOS,
AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE *Leishmania infantum* EM *Lutzomyia spp.* E
DETERMINAÇÃO DOS PONTOS DE RISCO PARA A TRANSMISSÃO
DA DOENÇA**

Dissertação apresentada ao Instituto Keizo Asami-iLIKA/Universidade Federal de Pernambuco, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Biologia Aplicada à Saúde, para a obtenção do grau de Mestre em Biologia aplicada a Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos Alves

Co-orientador: Prof. Dr. Gabriel Gazoni

Co-orientador: Prof. Dr. Fábio André Brayner

Recife, 2025

SERGIO FLORENCIO DA COSTA

**DINÂMICA DA TRANSMISSÃO DA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA NO
MUNICÍPIO DE GOIANA/PE: IDENTIFICAÇÃO DE CASOS,
AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE *Leishmania infantum* EM *Lutzomyia spp.* E
DETERMINAÇÃO DOS PONTOS DE RISCO PARA A TRANSMISSÃO
DA DOENÇA**

Dissertação apresentada ao Instituto Keizo Asami-
iLIKA/Universidade Federal de Pernambuco, como pré-
requisito do Programa de Pós-graduação em Biologia
Aplicada à Saúde, para a obtenção do grau de Mestre em
Biologia aplicada a saúde.

Aprovado em: 25 / 04 /25

Banca examinadora:

Profº Dr. Luiz Carlos Alves (Orientador) IAM/FIOCRUZ/ MS/PE

Profª Dra. Ana Paula Sampaio Feitosa (Membro Externo) UFPE

Profª Dra. Gilsan Aparecida de Oliveira (Membro Externo) CESMAC

.Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Costa, Sergio Florêncio da.

Dinâmica da transmissão da Leishmaniose visceral canina no Município de Goiana/PE: identificação de casos, avaliação da presença de *Leishmania infantum* EM *Lutzomyia* spp. e determinação dos pontos de risco para a transmissão da doença / Sergio Florêncio da Costa. - Recife, 2025.

54f.: il.

Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal de Pernambuco, Instituto Keiso Asami, Programa de Pós Graduação em Biologia Aplicada à Saúde, 2025.

Orientação: Luiz Carlos Alves.

1. Leishmaniose visceral; 2. Epidemiologia; 3. Flebotomíneo.
I. Alves, Luiz Carlos. II. Título.

UFPE-Biblioteca Central

À minha esposa, Inalda Gomes da Silva Costa, que nunca me deixou desistir e sempre esteve ao meu lado nos momentos mais difíceis dessa trajetória. Aos meus filhos, Sidney Yhago Florêncio Gomes da Costa e Ivisson Florêncio Gomes da Costa que foram a minha base e o meu suporte durante o desenvolvimento desse estudo, e realização de um sonho. Obrigado minha família, minha base, meu suporte. E aos meus pais, Maria da Costa e Severino Florêncio da Costa (*in memoriam*) que agora estão no céu, sempre torcendo por mim.

AGRADECIMENTOS

À Inalda Gomes da Silva Costa, minha esposa que sempre esteve ao meu lado em todos os momentos, principalmente nos mais complicados e difíceis nessa longa trajetória.

Aos meus filhos, Sidney Ihago Florêncio Gomes da Costa e a Ivisson Florêncio Gomes da Costa pelas ajudas dadas nessa caminhada que percorri. Que DEUS, os abençoe grandemente sempre.

Ao meu orientador, Dr. Luiz Carlos Alves, por toda paciência, dedicação e empenho na realização deste trabalho, não me deixando desistir nos momentos mais difíceis dessa trajetória, tendo sempre palavras de ânimo e encorajamento. Que DEUS o abençoe grandemente.

Às minhas Co-orientadoras, Dr^a. Ana Paula Sampaio Feitosa e Dr^a. Gilsan Aparecida de Oliveira pela disponibilidade em atender-me quando ia em busca de conhecimentos para o desenvolvimento deste trabalho, sempre dispostas a ajudar e orientando de braços abertos. Que DEUS as abençoe grandemente sempre.

À minha amiga, Rosemary Gonçalves de Aguiar, companheira de pesquisa, estudo, viagens e que foi uma das poucas pessoas que participou de todas as etapas deste trabalho. A você, minha amiga, que DEUS lhe conceda muitas bênçãos e também a sua família.

Aos que compõem os laboratórios de Doenças Parasitárias Infecciosas e não Infecciosas, Biologia Celular e Molecular do IAM/FIOCRUZ e Microscopia Eletrônica e Patologia do iLIKA/UFPE, por todos os momentos, amizade e alegrias, que com certeza a trajetória não seria a mesma sem vocês.

Ao meu amigo, Marcos Eraldo da Rocha, motorista do Aggeu Magalhães que esteve sempre presente desde o início até o final de nosso trabalho de pesquisa e me ajudou bastante com seus conselhos e orientações.

À prefeitura de municipal de Goiana/PE, na pessoa do prefeito Eduardo Honório Carneiro pela parceria e apoio no desenvolvimento do estudo nesses dois anos.

À secretaria municipal de Saúde, na pessoa da Ex. Secretária, Lícia Maciel de Melo, pelo apoio e ajuda disponibilizada para o desenvolvimento deste trabalho de pesquisa realizado em nosso município.

À gerente de vigilância ambiental do município de Goiana-PE, na pessoa de Gleyce Manuely Oliveira de Lima, por todo apoio e incentivo na trajetória e desenvolvimento deste trabalho.

Aos Agentes Comunitários de Saúde (ACS) de Goiana, (sede e distrito) e aos enfermeiros e médicos de todas as Unidades Básicas de Saúde (UBS) de Goiana, (sede e distrito) se não houvesse o trabalho e dedicação de vocês não seria possível alcançar os resultados obtidos; sem a amizade e esforço de cada um nada teria sido feito.

Ao Secretário Fábio Constantino Barros Costa e a todos os funcionários, professores e coordenadores do PPGBAS – UFPE, por compartilharem seus conhecimentos e por toda a compreensão;

A Rafael José Ribeiro Padilha que também repassou suas experiências e conhecimentos, bem como, a Jana Messias Sander suas orientações e conhecimentos contribuíram para aumentar os meus.

À Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Instituto Aggeu Magalhães (IAM) e ao iLIKA, instituições que me proporcionaram obter novos conhecimentos e a conclusão deste trabalho.

Aos meus amigos Agentes de Combate às Endemias (ACEs) e ACS que muito me motivaram nessa árdua caminhada. Muito obrigado pelas palavras de força e incentivos que cada um transmitiu, que DEUS, os abençoe sempre;

Ao meu amigo Márcio Valério Pessoa (Márcio Autopeças), que em determinados momentos me ajudou com o abastecimento do meu carro e na minha alimentação, não permitindo que perdesse o foco nem desistisse da realização deste sonho. A você meu amigo, muito obrigado de coração.

SERGIO FLORÊNCIO DA COSTA, M.Sc, Universidade Federal de Pernambuco, abril de 2025. **Dinâmica da transmissão da leishmaniose visceral canina no município de Goiana/PE: identificação de casos, avaliação da presença de *Leishmania infantum* em *Lutzomyia spp.* e determinação dos pontos de risco para a transmissão da doença.** Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos Alves.

RESUMO

A leishmaniose visceral (LV) é uma doença parasitária infecciosa, porém não contagiosa, negligenciada, de ampla distribuição. No mundo a leishmaniose visceral já tem feito muitas vítimas, pois se trata de uma doença silenciosa, e de difícil diagnóstico, são doenças transmitidas através da picada da fêmea do flebótomo. O estado de Pernambuco apresenta casos humanos, caninos e a presença de vetores em diversas regiões. A leishmaniose visceral canina (LVC) pode apresentar vários aspectos clínicos, desde assintomáticos até casos graves que levam à morte se não forem tratados corretamente. Esse estudo teve como objetivo identificar cães positivos para LV, avaliar a presença de *Leishmania infantum* em *Lutzomyia spp.* e identificar as áreas de risco para a transmissão da LV no município de Goiana/PE. No Brasil este agravo representa um desafio significativo para a saúde pública. A população canina foi estimada com base na relação preconizada pelo Programa de Controle da Leishmaniose Visceral (PCLV) de um cão para cada cinco habitantes. Uma amostra aleatória dos domicílios foi então selecionada, primeiro mediante a sorteio das ruas e, posteriormente, das residências. Os bairros contemplados, foram Nova Goiana, e Bom tempo, e os distritos, Gambá, Atapuz, Carrapicho, São Lourenço, Carne de Vaca, Ponta de Pedras, Catuama e Barra de Catuama. O total de cães participantes foram 88 cães que corresponde a 100% dos cães participantes do estudo, foram realizados os exames de TR-DPP e o ELISA[®], dos quais 15 cães, no TR-DPP e 05 cães, no ELISA[®]. Das 10 localidades estudadas em 03 foram encontrados flebotomíneos da espécie *Lutzomyia longipalpis*, que foram as localidades de São Lourenço povoação, Catuama e Barra de Catuama, representando assim um risco de contaminação de LV no município de Goiana/PE.

Palavras-chave leishmaniose visceral; epidemiologia; flebotomíneo; cães.

SERGIO FLORÊNCIO DA COSTA, M.Sc., Federal University of Pernambuco, Apryl 2025. **Transmission dynamics of canine visceral leishmaniasis in the municipality of Goiana/PE: case identification, detection of *Leishmania infantum* in *Lutzomyia* spp., and determination of risk areas for disease transmission.** Supervisor: Luiz Carlos Alves.

ABSTRACT

Visceral leishmaniasis (VL) is a parasitic, non-contagious, and neglected infectious disease with widespread distribution. Globally, visceral leishmaniasis has claimed many victims, as it is a silent disease with a difficult diagnosis and is transmitted through the bite of female sandflies. The state of Pernambuco reports human and canine cases, as well as the presence of vectors in several regions. Canine visceral leishmaniasis (CVL) can present a broad clinical spectrum, ranging from asymptomatic infections to severe forms that may lead to death if not properly treated. This study aimed to identify dogs positive for VL, assess the presence of *Leishmania infantum* in *Lutzomyia* spp., and determine risk areas for the transmission of VL in the municipality of Goiana, Pernambuco. In Brazil, this disease represents a significant public health challenge. The canine population was estimated based on the guideline established by the Visceral Leishmaniasis Control Program (PCLV), which recommends a ratio of one dog for every five inhabitants. A random sample of households was selected through a two-stage process: first by drawing streets, then individual residences. The neighborhoods included were Nova Goiana and Bom Tempo, along with the districts of Gambá, Atapuz, Carrapicho, São Lourenço, Carne de Vaca, Ponta de Pedras, Catuama, and Barra de Catuama. A total of 88 dogs participated in the study, corresponding to 100% of the selected sample. Serological testing was performed using the TR-DPP and ELISA® assays. Of these, 15 dogs tested positive using TR-DPP, and 5 using ELISA®. Among the ten studied localities, the sandfly species *Lutzomyia longipalpis* was identified in three: São Lourenço, Catuama, and Barra de Catuama. These findings indicate a potential risk for VL transmission in the municipality of Goiana, Pernambuco.

Keywords: visceral leishmaniasis; epidemiology;. sandfly; dogs.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Formas promastigota e amastigota de <i>Leishmania spp.</i>	18
Figura 2 –	Fêmea de <i>Lutzomyia Longipalpis</i> .	18
Figura 3 –	Ciclo biológico e de transmissão da <i>Leishmania spp.</i>	19
Figura 4 –	Representação esquemática dos métodos sorológicos para diagnóstico de LVC.	29
Figura 5 –	Representação esquemática do diagnóstico molecular.	30
Figura 6 –	Mapa de calor (<i>hotspot</i>) para LVC de cães diagnosticados como reagentes no teste DPP® do município de Goiana/PE no período de junho de 2023 a junho de 2024.	37
Figura 7 –	Mapa de calor (<i>hotspot</i>) de cães diagnosticados como reagentes para LVC no teste de ELISA® do município de Goiana/PE no período de junho de 2023 a junho de 2024.	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Total de cães participantes do estudo com resultados reagentes e não reagentes para LV.	36
Tabela 2 –	Diagnóstica dos cães segundo o método de exame utilizado para o diagnóstico LVC.	36
Tabela 3 –	Cães reagentes para LVC de acordo com a faixa etária e os testes diagnósticos utilizados no município de Goiana-PE no período de junho de 2023 a junho de 2024.	38

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Distribuição por faixa etária e sexo dos cães avaliados	35
Gráfico 2 – Distribuição de flebotomíneos segundo o sexo	38

LISTA DE ABREVIATURAS

ACS	Agentes Comunitários de Saúde
CDC	<i>Center on Disease Control</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i> / Ácido desoxirribonucleico
ELISA®	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay / Ensaio de imunoabsorção por ligação Enzimática
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
GPS	<i>Global Position System</i>
LV	Leishmaniose Visceral
LVC	Leishmaniose Visceral Canina
mL	mililitro
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Panorâmica de Saúde
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> / Reação em cadeia da polimerase
RIFI	Reação de imunofluorescência indireta
RPM	Rotações por minuto
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UBS	Unidades Básicas de Saúde
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 EPIDEMIOLOGIA DA LEISHMANIOSE VISCERAL	16
2.2 AGENTE ETIOLÓGICO E VETOR	17
2.3 CICLO BIOLÓGICO	19
2.4 SINTOMATOLOGIA	20
2.5 DIAGNÓSTICO	21
2.6 TRATAMENTO	21
2.7 CONTROLE E PREVENÇÃO	23
3. HIPÓTESE	24
4. OBJETIVOS	25
4.1 OBJETIVO GERAL	25
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
5. METODOLOGIA	26
5.1 DESENHO DO ESTUDO	26
5.2 POPULAÇÃO DA PESQUISA	26
5.2.1 Caracterização da área de estudo	26
5.3 DEFINIÇÃO E SELEÇÃO DA AMOSTRA	26
5.3.1 Critérios de inclusão	27
5.3.2 Critérios de exclusão	27
5.4 MÉTODOS DE COLETA E PROCESSAMENTO DE DADOS BIOLÓGICOS DOS CÃES	27
5.5 COLETAS DO SANGUE CANINO	27
5.6 PADRONIZAÇÃO DAS TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL	28
5.6.1 Teste rápido DPP®	28
5.6.2 Reação em cadeia da polimerase (PCR)	29
5.6.3 Ensaio imunoenzimático (ELISA®)	31
5.7 INQUÉRITO ENTOMOLÓGICO	31
5.8 EXTRAÇÃO DE DNA DE FLEBÓTOMO	32
5.8.1 PCR para identificação do KDNA de <i>Leishmania spp</i>	32

5.8.2 Resultado da PCR.....	33
6 GEORREFERENCIAMENTO.....	34
7. RESULTADOS.....	35
8. DISCUSSÃO.....	40
9. CONCLUSÃO	45
REFERÊNCIAS	46
ANEXOS	51

1. INTRODUÇÃO

A Leishmaniose Visceral (LV) é uma zoonose causada pelo protozoário *Leishmania infantum*, transmitido pela picada da fêmea de flebotomíneo infectado (Maroli *et al.*, 2013). Os principais agentes etiológicos da LV em humanos e cães são *Leishmania chagasi* e *Leishmania infantum*. Essa zoonose é transmitida através da picada das fêmeas dos flebotomíneos (Megid *et al.*; Ribeiro; Paes, 2016).

Nos últimos 20 anos, a LV vem crescendo no mundo de forma muito preocupante (Aguilar; Rodrigues, 2017). Esses números progressivos de casos estão associados com o processo de ocupação urbana desordenada, resultado da migração, a destruição do meio ambiente, saneamento precário, falta de controle no trânsito de animais entre essas áreas e outras situações atreladas a esse processo que tornam a vida das pessoas mais precárias e promovendo condições favoráveis para a reprodução do vetor e o estabelecimento do agravo (Abrantes *et al.*, 2018).

Os cães domésticos são considerados os principais reservatórios de *Leishmania chagasi* nas áreas urbanas de devido a sua alta sensibilidade a infecção e ao alto parasitismo cutâneo. Dessa forma, sua presença nas residências pode servir tanto como hospedeiro competente, como fonte de infecção para os vetores (Quinnell; Coutenay, 2009).

A Leishmaniose Visceral Canina (LVC) pode apresentar vários aspectos clínicos, desde assintomáticos até casos graves que levam à morte se não forem tratados corretamente (Solano-Galego *et al.*, 2011). A doença é considerada um importante problema de saúde pública em diversas regiões do mundo, especialmente em países tropicais e subtropicais, incluindo o Brasil (Fernandes; Ferreira; Carvalho, 2018). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a LVC é uma das seis doenças tropicais prioritárias negligenciadas, afetando principalmente populações mais pobres e vulneráveis. Além do impacto na saúde animal, a LVC também pode afetar a saúde humana, uma vez que os cães infectados atuam como reservatórios do parasita, podendo transmiti-lo aos humanos através da picada do inseto vetor (Silva *et al.*, 2021a).

Dada a importância dessa zoonose e sua transmissão aos humanos, o controle da LVC envolve diversas estratégias, incluindo o combate ao vetor transmissor, a educação em saúde da população sobre os riscos da doença e medidas de prevenção, como o uso de coleiras repelentes. Essas medidas têm como objetivo reduzir o número de potenciais hospedeiros e eliminar locais propícios à proliferação dos vetores (Gonçalves; Rodrigues; Campos, 2015).

As taxas de prevalência da LVC podem variar amplamente de acordo com a região

geográfica, o teste utilizado e o nível de exposição aos vetores (Carvalho *et al.*, 2020). Por exemplo, em Pernambuco, foram detectadas soroprevalências variando de 2,4% a 42,8% (Evaristo *et al.*, 2020).

Esses dados são epidemiologicamente importantes, pois os casos caninos precedem os casos humanos, e o diagnóstico precoce em animais pode estabelecer medidas de prevenção para controlar a leishmaniose em humanos (Araújo *et al.*, 2016).

Segundo a Secretaria Estadual de Saúde de Pernambuco, o município de Goiana tem apresentado elevada quantidade de casos confirmados para LVC (Solano-Galego *et al.*, 2011). Logo, devido ao alto potencial de expansão da LVC especialmente em áreas próximas a regiões endêmicas é essencial promover medidas de vigilância mais abrangentes, incluindo vigilância entomológica para monitorar a presença e a atividade dos vetores, vigilância do reservatório para identificar animais infectados e diagnóstico para detectar casos positivos de LVC.

Além disso, é importante conduzir inquéritos epidemiológicos para caracterizar a disseminação da doença e auxiliar no desenvolvimento de estratégias de prevenção e controle adaptadas à realidade de cada município. Logo, O presente trabalho tem por objetivo analisar casos de LVC, presença de vetores e caracterização de áreas de risco para a transmissão da LVC no município de Goiana/PE para estabelecer uma vigilância sobre essa doença, com a finalidade de evitar a dispersão para áreas não endêmicas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 EPIDEMIOLOGIA DA LEISHMANIOSE VISCERAL

A LV é uma doença com ampla distribuição no mundo, estima-se que 90% dos casos ocorram em regiões tropicais de países em desenvolvimento, como Índia, Sudão, Nepal, Etiópia e Brasil. Nas Américas, sua ocorrência é observada desde o sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina. Globalmente, o número de pessoas infectadas varia entre 12 e 15 milhões, expondo cerca de 1 bilhão de pessoas ao risco de contraí-la, apresentando uma estimativa de surgimento de 1 milhão de novos casos anualmente (Who, 2020).

Apesar da concentração de casos em alguns países específicos, a grande migração de pessoas e animais entre continentes, bem como problemas relacionados à crise de refugiados em áreas endêmicas, têm contribuído para a disseminação da doença em regiões previamente não afetadas (Gontijo; Melo, 2004). Tal agravamento vem sendo desencadeado por diversos fatores, desmatamentos e queimadas decorrentes do crescimento de locais com aglomerações urbanas superlotadas e favelas, recentemente ocupadas e habitadas, proporcionando um excelente habitat do vetor da LV e um aumento da sua densidade nessas residências (Nascimento *et al.*, 2005).

O Brasil, que detém a maior incidência de LV na América do Sul, a geografia desempenha um papel essencial na dinâmica da doença. Devido a sua localização tropical, o país abriga uma diversidade de artrópodes, incluindo insetos vetores de doenças como malária, dengue e leishmanioses. Esses insetos atuam como transmissores de doenças ao interagirem com diversos micro-organismos e seus hospedeiros.

Em geral, os mamíferos servem como hospedeiros vertebrados para esses micro-organismos, estabelecendo um ciclo de transmissão através dos insetos vetores. A ecologia dos vetores desempenha um papel crucial no estabelecimento. Além dos seres humanos, os cães também são suscetíveis a várias doenças transmitidas por vetores, incluindo erliquiose, babesiose, dirofilariose e leishmanioses (Dantas-Torres, 2009).

A LVC, anteriormente considerada uma doença restrita a cães em áreas rurais, observa-se o surgimento de casos em regiões urbanas e periurbanas. Esse fenômeno é impulsionado pela adaptação dos vetores a essas áreas, pelo movimento de animais entre regiões endêmicas e não endêmicas, e pelo rápido crescimento dos grandes centros urbanos (Krauspenhar *et al.*, 2007; Diniz *et al.*, 2008).

Além disso, o contexto socioeconômico de uma região pode influenciar a dinâmica epidemiológica da LVC. Áreas com alta densidade populacional, condições sanitárias e subsistência precária podem facilitar a proliferação do vetor e aumentar sua proximidade com humanos e cães. O estado nutricional dos animais infectados também pode afetar sua suscetibilidade à doença (Diniz *et al.*, 2008; Dantas-Torres *et al.*, 2018).

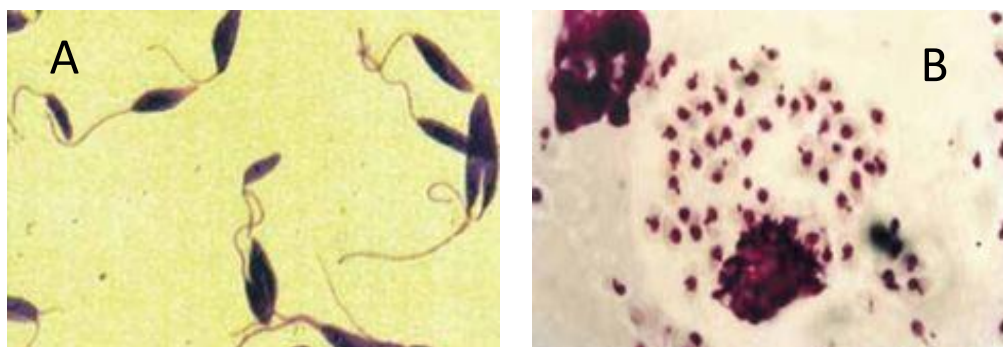
2.2 AGENTE ETIOLÓGICO E VETOR

A LV é uma zoonose causada por protozoários do gênero *Leishmania*, em destaque *Leishmania infantum*, de grande importância na saúde pública (Figueiredo *et al.*, 2017). De acordo com Silva *et al.* (2008), as doenças causadas por protozoários do gênero *Leishmania* foram consideradas como uma das doenças tropicais mais importantes pela OMS.

O parasito assume duas formas distintas: amastigota no hospedeiro vertebrado e promastigota no vetor (Lima *et al.*, 2021). Dentro dos vetores contaminados, essas formas amastigotas (Figura 1A) irão passar por uma nova mutação, transformando-se em uma forma promastigota procíclicas. Durante um novo repasto sanguíneo, essas formas serão ingurgitadas na derme de um novo cão doméstico ou outro mamífero, completando assim o ciclo biológico da LV (Martins; 2018).

Já a forma promastigota é flagelada e extracelular, sendo encontrada no trato gastrointestinal do vetor (Figura 1B). As promastigotas são as formas infectantes para os hospedeiros vertebrados, são inoculadas quando as fêmeas de flebotomíneos realizam o repasto sanguíneo. Essas duas formas distintas de parasitismo no vertebrado e no vetor contribuem para a complexidade do ciclo de vida do parasito e para a disseminação da LV (Lima *et al.*, 2021).

Figura 1: Formas promastigota e amastigota de *Leishmania spp.*



Legenda: A – *Leishmania* – Forma flagelada ou promastigota; B – *Leishmania* - Forma aflagelada ou amastigota.

Fonte: (Brasil 2014, p. 14).

O principal vetor responsável pela transmissão doença no mundo é o *Lutzomyia longipalpis* (Pech-may *et al.*, 2018). No Brasil, além do *Lutzomyia longipalpis* (Figura 2), também se constatou a participação de outros vetores, como o *Lutzomyia cruzi*, *Lutzomyia almerio* e *Lutzomyia salesi* (OPAS, 2023).

Figura 2: Fêmea de *Lutzomyia longipalpis*.



Fonte: Brasil (2014, p.15).

Esses insetos, conhecidos como flebotomíneos, possuem vários nomes populares, como mosquito palha, birigui, tatuquira, asa dura, mosquito de parede, entre outros. São caracterizados por seu pequeno tamanho, medindo em média de 1 a 3 mm de comprimento, e apresentam coloração clara. Depositam seus ovos em matéria orgânica e têm hábitos

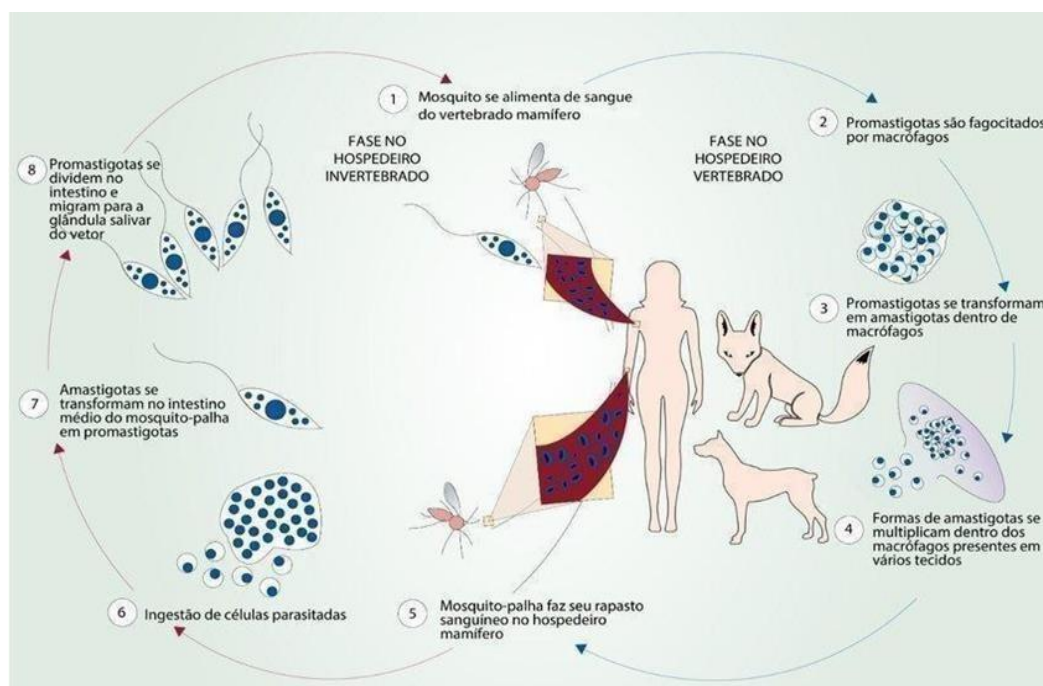
crepusculares e noturnos, voando em pequenos saltos (Brasil, 2014). Essa diversidade de vetores contribui para a complexidade da epidemiologia da LV no Brasil e em outras regiões do mundo.

Somente as fêmeas dos flebotomíneos são hematófagas, pois necessitam de sangue para o desenvolvimento dos ovos. Isso confere a elas uma elevada importância epidemiológica, uma vez que podem se alimentar do sangue de várias espécies de animais vertebrados, incluindo cães e humanos. Além disso, a atividade desses insetos é particularmente noturna (Brasil, 2014), o que os tornam especialmente relevantes como vetores de doenças transmitidas pelo sangue durante esse período.

2.3 CICLO BIOLÓGICO

O ciclo de vida da *Leishmania spp.* (Figura 3) requer a presença de três elementos: agente causador, vetores e reservatórios. As fêmeas de flebotomíneos são conduzidas ao hospedeiro por meio do cheiro, CO² e calor. Essas fêmeas, ao se depararem com o hospedeiro vertebrado, realizam o repasto sanguíneo como parte do seu processo de nutrição (Oliveira, 2020).

Figura 3: Ciclo biológico e de transmissão da *Leishmania spp.*



Fonte: Moreira (2020, p. 75).

O ciclo se inicia com o repasto sanguíneo da fêmea do flebotômíneo em um hospedeiro infectado, durante o qual ela ingere as formas amastigotas do parasita. No intestino do vetor, as amastigotas se diferenciam em promastigotas procíclicas, adotando uma morfologia flagelada. Este é o ponto de partida para um processo de replicação por fissão binária, dando origem às promastigotas metacíclicas, altamente infectantes. Essas formas parasitárias permanecem alojadas na probóscide do vetor, prontas para serem ingurgitadas em um novo hospedeiro durante uma picada subsequente (Brasil, 2014; Pimenta *et al.*, 2018).

Após a entrada no hospedeiro vertebrado, as promastigotas são fagocitadas por macrófagos, células do sistema imunológico, onde se diferenciam em amastigotas. Dentro dessas células hospedeiras, as amastigotas se multiplicam ativamente até que os macrófagos se rompam, liberando as formas parasitárias no ambiente circundante. As amastigotas então se disseminam através do local da picada, colonizando diversos tecidos como linfonodos, fígado, baço e medula óssea (Brasil, 2014).

O ciclo se completa quando o flebotômíneo realiza um novo repasto sanguíneo em um hospedeiro previamente infectado, reiniciando assim a infecção do vetor (Pimenta *et al.*, 2018).

2.4 SINTOMATOLOGIA

A sintomatologia da LV pode se manifestar de diferentes formas: aguda, subaguda, crônica ou regressiva, com algumas vezes os sintomas demorando anos para aparecerem (Jericó *et al.*, 2014). A presença da *Leishmania* pode ser encontrada em todo o corpo, afetando órgãos linfóides e não linfóides, e a gravidade dos sinais clínicos varia de um animal para outro.

As formas clínicas gerais observadas em cães com LVC incluem: aumento dos gânglios linfáticos, aumento do fígado e baço, mucosas pálidas, falta ou diminuição do apetite, perda de peso, letargia, aumento da urina e da sede, febre, vômitos, diarreia, problemas oculares, problemas de pele, sangramento nasal e claudicação (Leishvet, 2018).

Cães positivos para LVC geralmente apresentam aumento do baço, fígado e gânglios linfáticos devido à preferência do parasita por essas regiões e à inflamação resultante. No fígado, observa-se aumento das células de *Kupfer*, granulomas de diferentes tamanhos e inflamação crônica (Pires, 2022). A *Leishmania* também tende a afetar a medula óssea, causando diversos problemas, incluindo inflamação granulomatosa, redução na produção de células vermelhas do sangue, mudanças nas células megacariocíticas, aumento de linfócitos e plasmócitos (Almeida, 2017).

Os rins são frequentemente afetados na LVC, principalmente devido à deposição de complexos imunes na região glomerular, levando à glomerulonefrite (Greene, 2015). Além disso, a presença de anticorpos anti-histona e vasculite estão associadas a problemas renais (Greene, 2015). A insuficiência renal resultante causa azotemia, que é uma das principais razões para a falta e perda de apetite em cães com LVC (Jericó *et al.*, 2014).

Os principais sintomas da LVC em cães incluem perda de peso, apatia, febre, anemia, linfadenopatia e lesões cutâneas. O diagnóstico precoce e preciso da doença é fundamental para o sucesso do tratamento e controle da disseminação do parasita (Miranda; Gomes; Ferreira, 2018). Os agravos dos sinais clínicos podem estar relacionados a uma coinfeção, estado nutricional do animal entre outros distúrbios (Cavalcanti *et al.*, 2015).

2.5 DIAGNÓSTICO

Atualmente, para diagnosticar a LVC, são utilizados dois testes principais: o teste rápido de imunoensaio cromatográfico Dual Path Platform (DPP®) para triagem e o teste Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA®) para confirmação. Ambos os testes identificam a presença de anticorpos contra a *Leishmania spp.* (Brasileish, 2018).

O DPP® LVC é produzido pelo Instituto de Tecnologia em Imunológicos (Bio-Manguinhos/FIOCRUZ) e realizado adicionando a amostra (sangue, soro ou plasma, com alta especificidade (98,33%) e sensibilidade (93,33%)) (Brasileish, 2018). O teste ELISA® consiste na reação dos anticorpos presentes na amostra de soro com antígenos solúveis e purificados de *Leishmania*, adsorvidos em microplacas (Brasil, 2014).

Além desses métodos sorológicos, o diagnóstico da LVC pode ser feito através do exame parasitológico e da PCR. No exame parasitológico, são observadas as amastigotas parasitando células do sistema fagocítico mononuclear, com amostras coletadas da medula óssea, linfonodos, fígado, baço ou líquido sinovial. A técnica de PCR baseia-se na identificação do kDNA e utiliza amostras de medula óssea, sangue periférico e biópsia de pele (Andrade, 2017).

2.6 TRATAMENTO

O tratamento da LVC é um desafio para os médicos veterinários devido à complexidade do parasita e à diversidade de manifestações clínicas da doença. Atualmente, existem várias

opções terapêuticas disponíveis para o tratamento da LVC, incluindo alopurinol, antimoniais pentavalentes, Pentamidina, Miltefosina e anfotericina B. A escolha do tratamento depende do estado clínico do animal, da gravidade da doença e das condições locais de tratamento (Oliveira; Fernandes; Farias, 2021).

A anfotericina B é um medicamento administrado por via intravenosa e tem ação direta no parasita, destruindo-o. É utilizada no tratamento da LVC em casos graves e refratários aos outros medicamentos. No entanto, pode causar efeitos colaterais graves, como nefrotoxicidade e hipocalcemia (Maia; Campino, 2018).

O tratamento da LVC em animais infectados é importante não só para melhorar a qualidade de vida dos animais, mas também para prevenir a transmissão da doença para humanos e outros animais. Além disso, a redução da carga parasitária no organismo do animal pode reduzir a chance de transmissão do parasita para o vetor (Pereira *et al.*, 2018).

A Miltefosina, comercializada como MilteforanTM, é administrada oralmente e atua diretamente no parasita, causando sua destruição. A Miltefosina é empregada no tratamento da LVC, atuando como um antiparasitário, em países onde o parasita é resistente a outros fármacos similares. Contudo, a Miltefosina pode provocar reações adversas como náuseas e vômitos (Chagas *et al.*, 2017; Pacheco; Lima; Rodrigues, 2021).

O alopurinol é o fármaco mais comumente usado no tratamento da LVC. Isso ocorre porque impede a síntese de Ácido desoxirribonucleico (DNA) e Ácido Ribonucleico (RNA) pelo parasita, impedindo sua multiplicação e diminuindo a quantidade de parasitas no corpo. A medicação é administrada oralmente na concentração de 10-30 mg/kg, com um período de tratamento que pode variar de 6 meses a 1 ano. A efetividade do tratamento com alopurinol oscila entre 60% e 90% e pode estar ligada à existência de resistência do parasita ao fármaco (Santos; Silva; Gonçalves, 2021).

O alopurinol, um análogo da hipoxantina, é eficaz contra a *Leishmania*, interferindo na síntese de RNA do parasita e é comumente combinado com antimoniais pentavalentes devido à sua baixa toxicidade, eficácia e custo acessível (Baneth; Shaw, 2002; Brasileish, 2018).

Além dos medicamentos acima, estudos mostraram que a imunoterapia com a proteína recombinante A2-HIS, presente na vacina Leish-Tec[®], melhora a resposta imunológica, ela é recomendada apenas para animais assintomáticos que apresentaram resultados negativos para LV, controlando a progressão da doença e reduzindo sinais clínicos e mortalidade em animais infectados (Toepp *et al.*, 2018).

2.7 CONTROLE E PREVENÇÃO

O controle da LVC segue diretrizes estabelecidas pelo Ministério da Saúde, com foco em abordagens integradas para combater a doença em todas as frentes, incluindo o hospedeiro humano e canino, além do controle dos vetores. A implementação dessas medidas é responsabilidade dos serviços de saúde estaduais e municipais. As estratégias preventivas abrangem desde medidas como o uso de coleiras impregnadas com deltametrina para proteger os cães contra picadas de flebotomíneos, até a vacinação dos animais que vivem em áreas endêmicas, além do tratamento dos que já estão infectados (Brasil, 2014; Maia-elkhoury; Albuquerque; Salomon, 2018).

Os “erros” de conformidade identificados em lotes do produto foram a causa. Ademais, a eutanásia ainda é considerada uma medida de controle para animais com diagnóstico positivo para LVC, confirmado por testes sorológicos ou parasitológicos, e que não estão em tratamento exclusivo com Miltefosina (Brasil, 2014; Maia-Elkhoury; Albuquerque; Salomón, 2018).

A Lei número 14.307, promulgada em março de 2022, define novas orientações para o controle da LV no Brasil e modifica o protocolo de controle, abordando a questão da eutanásia canina. A nova lei determina que a eutanásia de cães diagnosticados com LVC não será mais uma ação compulsória, contanto que o animal não apresente manifestações clínicas severas da enfermidade. Tratar cães diagnosticados com *Leishmania infantum* tornou-se uma opção viável ao invés de apenas erradicar os animais.

3. HIPÓTESE

As pesquisas enfaticamente destacam o papel fundamental dos cães como reservatórios na perpetuação do ciclo da LV. Esses animais frequentemente abrigam altas cargas parasitárias na pele, tornando-se fontes significativas de infecção para os flebotomíneos, os vetores da doença.

Além disso, é alarmante que muitos cães infectados não manifestem sintomas clínicos da LV ou o fazem em estágios avançados da doença. Estima-se que entre 50 e 70% destes animais sejam assintomáticos em áreas endêmicas, representando um perigo latente ao serem potencialmente infectantes para os vetores. Essa constatação enfatiza a grande importância dos inquéritos sorológicos em cães como uma ferramenta essencial para antecipar e direcionar ações profiláticas.

Reconhece-se a importância da análise dos casos de LVC no município de Goiana/PE, com o objetivo primordial de fortalecer a vigilância epidemiológica sobre esse agravo. O presente estudo busca não apenas compreender a situação atual da LVC, mas também prevenir sua expansão para áreas ainda não endêmicas, por meio do entendimento da dinâmica epidemiológica dos vetores e da identificação de áreas de risco para a transmissão.

Essa abordagem mostra-se essencial para a proteção da saúde canina, humana e ambiental, em consonância com os princípios da Saúde Única contribuindo para a prevenção de potenciais impactos na saúde pública.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Determinar a prevalência de cães infectados com *Leishmania spp.*, descrever as espécies de flebotomíneos presentes na área de estudo e identificar a positividade para *Leishmania spp.*, além de determinar as principais áreas com riscos epidemiológicos para a disseminação da LV no município de Goiana/PE.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- determinar a prevalência de cães com Leishmaniose;
- identificar e classificar flebotomíneos nas localidades estudadas do município de Goiana/PE;
- determinar as principais áreas de risco para a transmissão da LV no município de Goiana/PE;
- caracterizar a população canina quanto as características epidemiológicas (biológicas) sexo, idade e raça.

5. METODOLOGIA

5.1 DESENHO DO ESTUDO

Foi realizado um estudo transversal, observacional, descritivo, quantitativo e prospectivo, com o objetivo de analisar as características e os fatores de exposição da população em uma área endêmica de LV, além da identificação de casos assintomáticos.

5.2 POPULAÇÃO DA PESQUISA

5.2.1 Caracterização da área de estudo

O município de Goiana/PE, localizado no extremo norte da Região Metropolitana do Recife (RMR), Pernambuco, faz divisa com a Região Metropolitana de João Pessoa, Paraíba, configurando uma zona de transição intermunicipal e interestadual. Com uma população superior a 80 mil habitantes, Goiana apresenta características urbanas e periurbanas que favorecem a mobilidade populacional e a interação entre ambientes rurais e urbanos.

Embora não apresente coeficientes epidemiológicos elevados que caracterizem situação de surto ou epidemia de LV, o município registra casos autóctones da doença em humanos e cães. O perfil epidemiológico observado é fragmentado e ainda incipiente, indicando circulação do parasito e a necessidade de intensificação das ações de vigilância e controle, especialmente diante do potencial de urbanização da LV na região. Foi realizado um estudo transversal e descritivo das características de cães e flebotomíneos residentes na área do estudo quanto a infecção por LVC, no período de junho de 2023 a junho de 2024.

5.3 DEFINIÇÃO E SELEÇÃO DA AMOSTRA

A população canina foi estimada com base na relação preconizada pelo Programa de Controle da Leishmaniose Visceral (PCLV) de um cão para cada cinco habitantes (Brasil, 2014). A identificação da população residente na área de estudo foi realizada considerando os domicílios ocupados no momento da pesquisa. Uma amostra aleatória dos domicílios das localidades, foi então selecionada, primeiro mediante a sorteio das ruas e, posteriormente, sorteio das residências.

O número de domicílios visitados para atingir o tamanho da amostra de indivíduos foi determinado com base na estimativa do número médio de indivíduos por domicílio. Para realizar os sorteios, foi empregado o programa *Epi Info*, versão 6.04.

5.3.1 Critérios de inclusão

Os critérios de inclusão para o estudo são: residir em Goiana/PE por mais de um ano ininterrupto, não ter diagnóstico prévio de LVC, esta residindo nas casas das famílias sorteadas.

5.3.2 Critérios de exclusão

Os critérios de exclusão do estudo incluem, a recusa do tutor em participar, não assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e se o cão realizou tratamento para LVC (Anexo A).

5.4 MÉTODOS DE COLETA E PROCESSAMENTO DE DADOS BIOLÓGICOS DOS CÃES

Os dados foram obtidos por meio de entrevista estruturada com o tutor do animal, utilizando-se ficha de cadastro padronizada. Essa ficha contemplou variáveis biológicas, incluindo sexo, idade, raça, identificação do tutor e histórico de tratamento prévio para LVC. A anamnese clínica foi conduzida com ênfase na identificação de sinais compatíveis com a enfermidade, tais como linfonodomegalia, alopecia, dermatite, úlceras cutâneas, conjuntivite, anorexia e linfadenopatia (Anexo C).

5.5 COLETAS DO SANGUE CANINO

Durante as visitas domiciliares, os responsáveis pelos animais receberam esclarecimentos sobre os objetivos, metodologia, potenciais riscos e benefícios, além da garantia de confidencialidade da pesquisa. Somente após a obtenção de autorização formal, a coleta de dados foi realizada. As amostras de sangue foram obtidas utilizando-se dois tubos *Vacutainer*, de 5 mL sendo um sem anticoagulante e outro de 5 mL com o anticoagulante EDTA, destinados, respectivamente, à realização da sorologia e do diagnóstico molecular por PCR. As amostras foram armazenadas sob refrigeração a 4°C e enviadas ao Laboratório de

Doenças Parasitárias Infecciosas e Não-Infecciosas do IAM/FIOCRUZ.

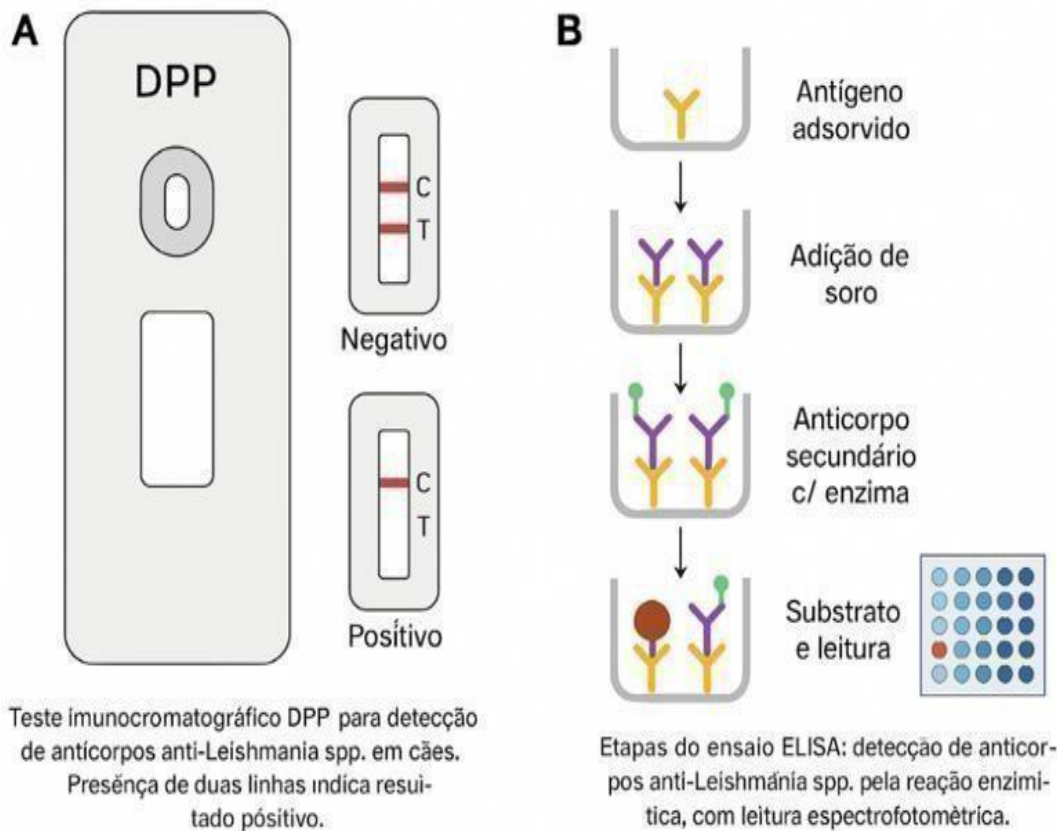
O diagnóstico da LVC foi realizado por meio de testes sorológicos, incluindo o Teste rápido DPP® e o ELISA®. Além disso, o diagnóstico molecular foi efetuado por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).

5.6 PADRONIZAÇÃO DAS TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

5.6.1 Teste rápido DPP®

A partir das amostras de sangue coletadas dos cães incluídos no estudo, foi realizado o teste imunocromatográfico DPP® (Dual Path Platform). Essa ferramenta é utilizada como triagem inicial para LVC. Trata-se de um teste rápido e qualitativo que detecta anticorpos anti-*Leishmania* do complexo *Leishmania donovani*, por meio da utilização de proteínas recombinantes K28, compostas pelos fragmentos K26, K39 e K9, como antígenos. A realização dos testes ocorreu no Laboratório de Doenças Parasitárias Infecciosas e Não Infecciosas, pertencente ao Departamento de Parasitologia do Instituto Aggeu Magalhães (IAM/FIOCRUZ/PE). Para a execução do procedimento, foram utilizados cinco microlitros de sangue canino, juntamente com uma solução tampão, aplicados nos dois poços designados do dispositivo. Após um período de 15 a 20 minutos, os resultados são visualizados: casos reagentes apresentam duas linhas visíveis — uma linha de controle (C) e uma linha de teste (T), indicando a presença de anticorpos específicos (Carvalho *et al.*, 2020).

Figura 4. Representação esquemática dos métodos sorológicos para diagnóstico de LVC.



Legenda: A) Teste imunocromatográfico rápido DPP®; B) Ensaio Imunoenzimático (ELISA®).

Fonte: O autor (2025).

5.6.2 Reação em cadeia da polimerase (PCR)

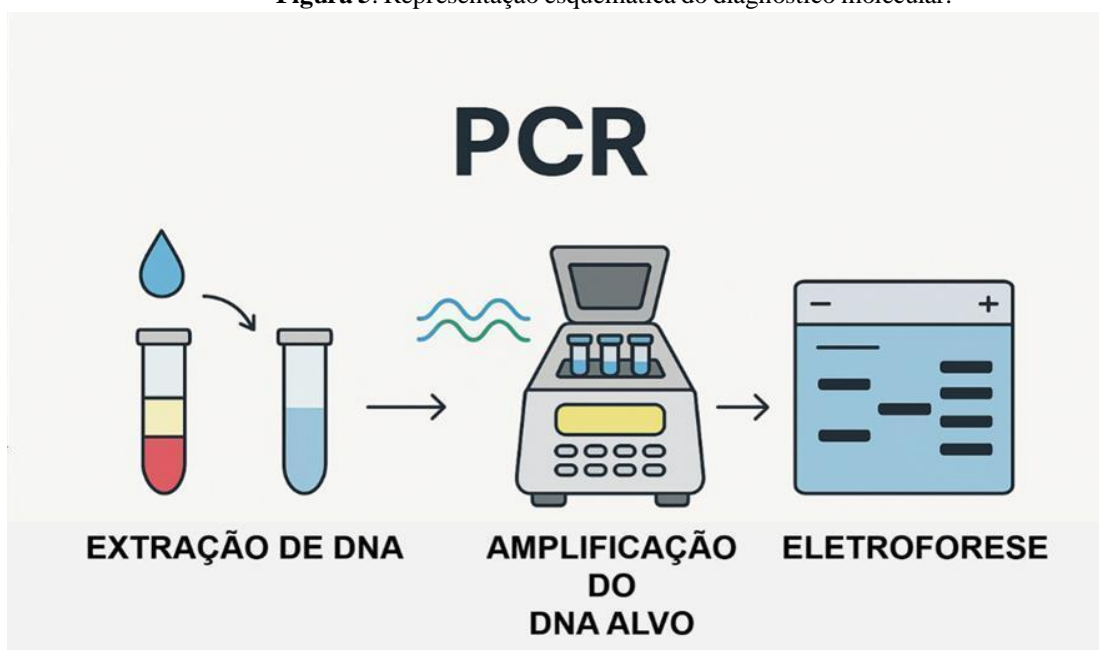
A PCR foi realizada a partir da extração de DNA do creme leucocitário. A extração do DNA foi realizada com o *Kit Wizard® Genomic DNA Purification* (Promega®). A amplificação de DNA de *Leishmania* spp. Foi realizada utilizando-se os primers FLC2 (5'-GTCAGTGTCTGGAACTAATCCGC-3') e RLC2 (5'-GGGAAATTGGCC TCCCTGAG-3') descritos por Gualda *et al.* (2015), que foram projetados para amplificar um segmento de 230 pb da região conservada do minicírculo de DNA do cinetoplasto (kDNA) de *L. infantum* [GenBank:AF308682 Locus] com 716 pb. Para controle positivo da reação foi utilizado DNA promastigotas de *Leishmania infantum*, cepa MHOM/BR/70/BH46. As reações foram realizadas em duplicata, contendo 1,5 µL de tampão de reação 10x, 0,3 µL de cada dNTP a 10 mM, 0,5 µL de MgCl₂ a 1,5 mM, 0,8 µL de cada primer a 20 pmol, 0,2 µL de Taq DNA polimerase recombinante a 1U/µL e 1µL de DNA à 20ng/µL em um volume final de 15 µL.

As amostras foram amplificadas em aparelho termociclador Mastercycler Personal (Eppendorf®). A ciclagem teve uma desnaturação inicial a 94°C por 5 min, sendo seguido por

32 ciclos de 94°C por 1 min para desnaturação, 69°C por 1 min para anelamento, 72°C por 30s para extensão mais 72°C por 5 min para extensão final (Solano-Gallego *et al.*, 2011).

Para a revelação do DNA amplificado foi utilizado 3 µL dos produtos amplificados os quais foram avaliados por eletroforese utilizando gel de agarose a 2% corado com brometo de etídeo (0,4mg/mL) e migrados com tampão TBE 1X em cuba de eletroforese horizontal, capacidade 1L, sob as seguintes condições: 100V, 150mA, 400W, por 40 minutos. Os produtos da amplificação foram visualizados sob luz ultravioleta em transluminador (Transiluminator Locus biotecnologia – L. PIX).

Figura 5. Representação esquemática do diagnóstico molecular.



Fonte: O autor (2025).

Após confirmação de positividade para *Leishmania*, os cães passaram por avaliação clínica, realizada pelo médico veterinário e responsável da pesquisa. Depois de confirmada a presença de *Leishmania*, o próximo passo foi determinado pelas diretrizes e metas da pesquisa, respeitando as normas locais, além das práticas éticas e científicas legais.

5.6.3 Ensaio Imunoenzimático (ELISA®)

Os cães foram avaliados clinicamente segundo o critério de inclusão de exclusão pelo pesquisador, em seguida foram submetidos a coleta de 5mL de sangue periférico em um tubo vacutainer sem anticoagulante. para o diagnóstico laboratorial/sorológico. Em seguida, os tubos foram encaminhados ao Laboratório de Doenças Parasitárias Infecciosas e não Infecciosas do Departamento de Parasitologia do Instituto Aggeu Magalhães – (IAM/FIOCRUZ/PE). As amostras de sangue foram centrifugadas a 2500rpm por 10min para a obtenção do soro, que foi armazenados à 2 – 4°C. Os soros dos indivíduos foram submetidos à Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) utilizando-se kit fornecido pelo Instituto Bio-manguinhos, da FIOCRUZ/RJ. As amostras foram processadas conforme as instruções do fabricante.

Adicionam-se na placa os soros com controle positivo e negativo e as amostras, devidamente diluídos. Caso as amostras possuam anticorpos específicos, esses irão se ligar aos antígenos da fase sólida. Na etapa seguinte, foi adicionado um conjugado específico, anti-imunoglobulina G marcado com uma enzima peroxidase. Na presença de anticorpos específicos, ocorre a ligação conjugado anticorpo, que poderá ser evidenciado com a adição de uma substância cromógena(tetrametibenzidina-TMB). A peroxidase juntamente com peróxido de hidrogênio formará um composto de coloração azul turquesa que ao adicionar-se o ácido sulfúrico, interrompe a reação e passa a apresentar uma coloração amarela, positivo (reagente). Nas cavidades que não houver anticorpos específicos, não haverá desenvolvimento de cor o que caracterizam uma reação negativa (não reagente). Os resultados foram avaliados por meio de um espectômetro para microplacas em comprimentos de onda de 450nm.

5.7 INQUÉRITO ENTOMOLÓGICO

O estudo da fauna flebotomínica foi realizada nas mesmas residências onde foram coletadas as amostras de sangue de cães. Para avaliar a presença de flebotomíneos e a possível transmissão de *Leishmania infantum*. Foram realizadas coletas deste díptero com o intuito de avaliar a diversidade dos vetores e possíveis infecções naturais por *Leishmania spp*. As coletas foram realizadas no intradomicílio e no peridomicílio, sendo este em paredes externas dos domicílios e abrigos de animais domésticos.

Para a captura dos flebotomíneos, foram utilizadas armadilhas luminosas tipo *Center on Disease Control* (CDC). As armadilhas foram expostas às 17h e recolhidas às 05h horas do dia

seguinte. Os flebotomíneos capturados foram conservados em RNAlater RNA *Stabilization Reagent* (QIAGEN), em seguida os espécimes foram clarificados em KOH a 10%, observados ao microscópio óptico e identificados de acordo com as chaves de identificação propostas por Galatti (2014). Os insetos capturados pelas armadilhas foram submetidos a uma pré-seleção no Laboratório de Entomologia do Instituto Aggeu Magalhães – Fundação Oswaldo Cruz (IAM/FIOCRUZ). Posteriormente, os flebotomíneos foram identificados morfológicamente e processados para avaliação da positividade para kDNA de *Leishmania spp.*, empregando-se a PCR. A frequência do vetor foi calculada com base no número de espécimes capturados e na respectiva classificação entomológica.

5.8 EXTRAÇÃO DE DNA DO FLEBÓTOMO

O DNA genômico foi extraído de acordo com o protocolo descrito por Ayres *et al.* (2002). A extração foi realizada de acordo com as etapas descritas a seguir. Pools de 10 fêmeas foram macerados em 1mL de tampão de lise (NaCl 0,4 M, Tris-HCl 10 mM, pH 8,0 e EDTA 2mM, pH 8,0), 17,5µL de proteinase K (10 mg/mL) e 180µL de SDS 10%. O produto do macerado foi, então, incubado a 65°C overnight. Após a adição de 800 µL de NaCl 5M à suspensão, a mistura foi homogeneizada por 1min, seguida de centrifugação a 14.000rpm por 20min.

O DNA foi precipitado do sobrenadante pela adição de igual volume de Isopropanol, incubado a -20°C por 1h e centrifugado a 14.000rpm por 20min. O pellet foi, finalmente, lavado com etanol 70%, seco e ressuscitado em 20µL de TE 1X (TRIS-EDTA, 10:1mM). Após a extração, as amostras de DNA foram armazenadas a - 20°C até sua utilização nas reações de PCR. Após a extração, o DNA foi quantificado no *NANODROP Thermo SCIENTIFIC*.

5.8.1 PCR para identificação do kDNA de *Leishmania spp.*

A amplificação de DNA de *Leishmania spp.* foi realizada utilizando-se os primers FLC2 (5'-GTCAGTGTCTGGAACTAATCCGC-3') e RLC2 (5'-GGGAAATTGGCC TCCCTGAG-3') descritos por Gualda *et al.* (2015), foram projetados para amplificar um segmento de 230pb da região conservada do minicirculo de DNA do cinetoplasto (kDNA) de *Leishmania infantum* [GenBank:AF308682 LOCUS] com 716pb como descrito no tópico 5.7.

5.8.2 Resultados da PCR

Análise os resultados da PCR por eletroforese em gel de agarose, utilizando géis apropriados para a detecção de fragmentos de DNA. No nosso laboratório, pesamos 0,3gramas de agarose, em 30mL de TE e adicionamos 3µL de SYBR. Quando se prepara o gel, normalmente aplica-se 2µL de bromo fenol (tampão de corrida), 5µL de amostra e 3µL de H2O ultrapura em cada poço do gel de eletroforese.

Comparar os padrões de banda obtidos nas amostras de *Leishmania infantum* com os controles positivos e negativos. Verifique se há amplificação específica do fragmento esperado.

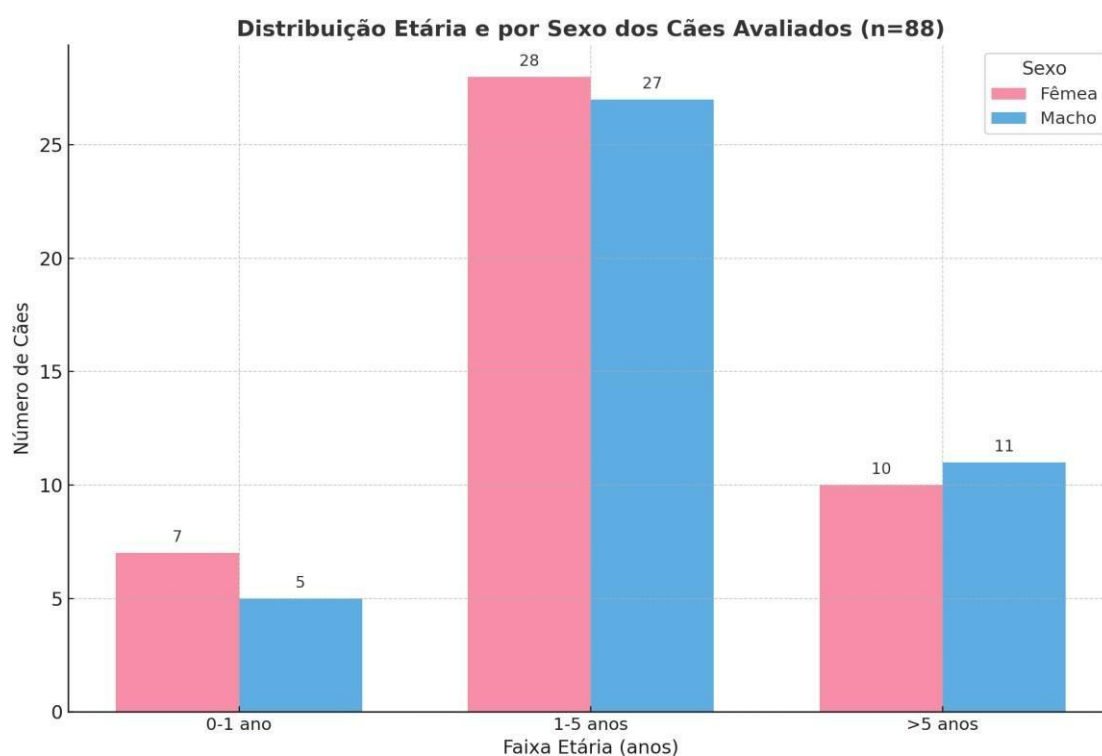
6 GEORREFERENCIAMENTO

Todas as residências sorteadas foram registradas e georreferenciadas utilizando o sistema de rádio-navegação mundial *Global Positioning System* (GPS). Para essa finalidade, foi empregado um aparelho receptor GPS da marca *Garmin* modelo 76. As coordenadas obtidas em campo foram registradas em uma planilha do Excel e, posteriormente, convertidas em arquivos dBase (dbf), viabilizando sua utilização direta no programa QGIS. Esse mapeamento foi feito em todas as residências que participaram do estudo, e das residências onde houve a coleta do sangue canino assintomáticos e as instalações de armadilhas para as coletas dos flebotomíneos, todos da família do *Lutzomyia longipalpis*, onde não houve nenhum flebótomo infectado.

7 RESULTADOS

Neste estudo, foram avaliados 88 cães em 10 localidades, sendo estas: os bairros de Nova Goiana, e Bom tempo, e nos distritos, Gambá, Atapuz, Carrapicho, São Lourenço, Carne de Vaca, Ponta de Pedras, Catuama e Barra de Catuama, do município de Goiana/PE (gráfico 1)

Gráfico 1: Distribuição por faixa etária e sexo dos cães avaliados



Fonte: O Autor (2025).

A análise da distribuição etária e sexual dos cães participantes revelou uma predominância de animais na faixa etária de 1 a 5 anos. Entre as fêmeas, foram identificados sete com idade entre 0 e 1 ano, 28 na faixa de 1 a 5 anos, e 10 com mais de 5 anos, totalizando 45 fêmeas analisadas. No caso dos machos, cinco cães estavam na faixa de 0 a 1 ano, 27 entre 1 e 5 anos, e 11 acima de 5 anos, totalizando 43 machos avaliados.

Do total de cães avaliados no estudo, 46 foram diagnosticados como reagentes para LVC, em algum dos testes utilizados. O teste DPP® diagnosticou 33 cães como reagentes, enquanto o teste ELISA® diagnosticou 13 animais reagentes. Sendo 42 cães classificados como não-reagentes em todos os testes (Tabela 1).

Tabela 1: Total de cães participantes do estudo com resultados reagentes e não reagentes para LV.

Resultado	Valores absolutos	Frequência(%)
Reagentes	46	52,3
Não reagentes	42	47,7
Total	88	100

Fonte: O Autor (2025).

Em relação ao teste molecular, nenhum cão foi reagente na PCR. A combinação dos testes DPP® e ELISA® revelou 10 cães reagentes para LVC (Tabela 2). Os dados da distribuição por sexo dos cães reagentes para LVC, revelaram que no teste ELISA® foram diagnosticados oito machos e cinco fêmeas como reagentes. Enquanto, o teste DPP® diagnosticou 18 machos e 15 fêmeas reagentes. Na combinação de DPP® e ELISA® revelou-se cinco cães machos reagentes e cinco cães fêmeas reagentes para LVC (Figura 6).

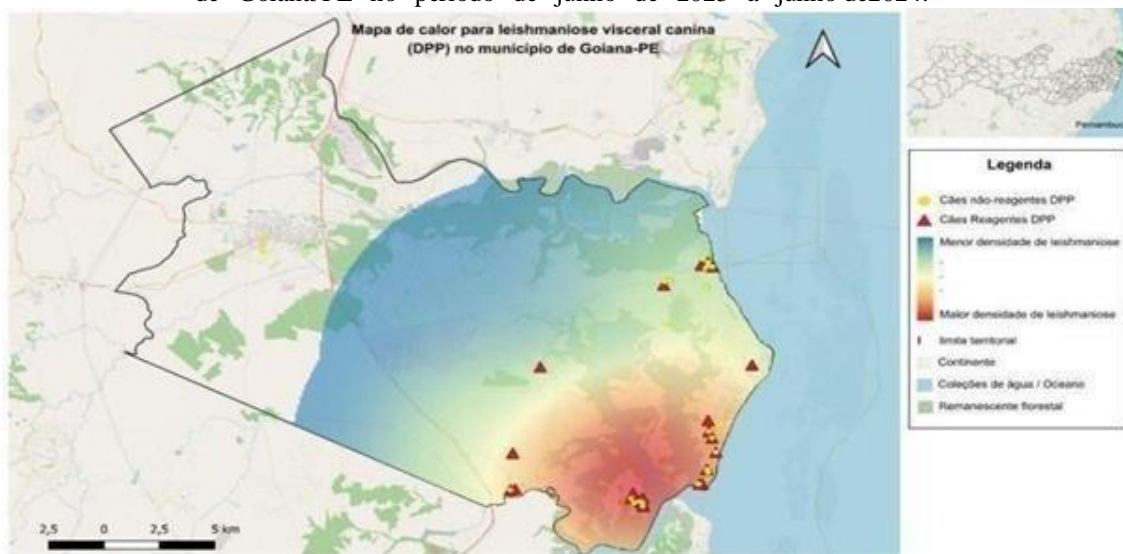
Tabela 2: Diagnóstica dos cães segundo o método de exame utilizado para o diagnostico LVC.

Tipo de teste	Valores absolutos	Frequência (%)*
Reagentes apenas no DPP®	33	58,9
Reagentes apenas no ELISA®	13	23,2
Reagentes apenas no PCR	0	0,0
Reagentes no DPP® + ELISA®	10	17,9

*Frequência relativa a totalidade de cães identificados como reagentes em um dos testes utilizados.

Fonte: O Autor (2025).

Figura 6: Mapa de calor (*hotspot*) para LVC de cães diagnosticados como reagentes no teste DPP® do município de Goiana/PE no período de junho de 2023 a junho de 2024.



Fonte: O Autor (2025).

Em relação à faixa etária das fêmeas reagentes no teste imunocromatográfico DPP® tivemos como resultados: Na faixa etária de 0 a 1 ano, nenhum animal foi diagnosticado reagente, na faixa de 1 a 5 anos, foram registrados 11 animais reagentes e no grupo acima de 5 anos, diagnosticamos quatro animais reagentes.

Na análise dos machos os resultados foram: dois animais diagnosticados reagentes na faixa etária de 0 a 1 ano, 15 animais diagnosticados reagentes na faixa de 1 a 5 anos e apenas um animal diagnosticado reagente na faixa acima de 5 anos. Quando utilizado como diagnóstico o teste sorológico Imunoenzimático ELISA®, foi confirmada a ausência de fêmeas reagentes na faixa de 0 a 1 ano e identificadas três fêmeas reagentes na faixa de 1 a 5 anos e duas fêmeas reagentes na faixa acima de 5 anos.

Quando avaliamos os animais reagentes pareados no DPP e no ELISA, foi observado o mesmo resultado do teste ELISA® isolado, três fêmeas reagentes na faixa de 1 a 5 anos e duas fêmeas reagentes na faixa acima de 5 anos. Na análise dos machos obtivemos como resultados dois animais diagnosticados reagentes na faixa etária de 0 a 1 ano, seis animais diagnosticados reagentes na faixa de 1 a 5 anos e nenhum animal foi diagnosticado na faixa acima de 5 anos (Tabela 3)

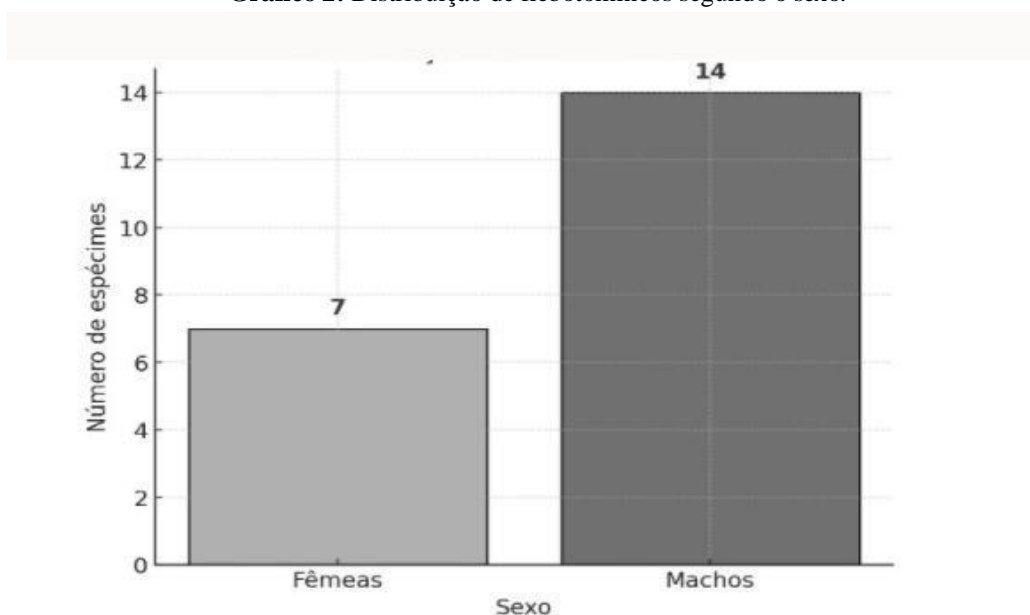
Tabela 3: Cães reagentes para LVC de acordo com a faixa etária e os testes diagnósticos utilizados no município de Goiana-PE no período de junho de 2023 a junho de 2024.

	0 A 1 ano		1 a 5 anos		Acima de 5 anos		
Reagentes	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Total
DPP®	02	00	15	11	01	04	33
ELISA®	02	00	06	03	00	02	13
DPP®+ELISA®	01	00	04	03	00	02	10
TOTAL	05	00	25	17	01	08	56

Fonte: o Autor (2025).

Esse levantamento entomológico foi realizado em todas as residências que participaram do estudo, e das residências onde houve a coleta do sangue canino assintomáticos, as instalações de armadilhas tipo CDC luminosa foram instaladas nos peridomicílios e intradomicílio, para as coltas dos flebotomíneos, foram coletados 21 exemplares de flebotomíneos, sendo sete fêmeas e 14 machos todos da mesma espécie e da mesma família, *Lutzomyia longipalpis*, onde, após as análises feitas em laboratório não foi encontrado nenhum flebótomo infectado (gráfico 2).

Gráfico 2: Distribuição de flebotomíneos segundo o sexo.

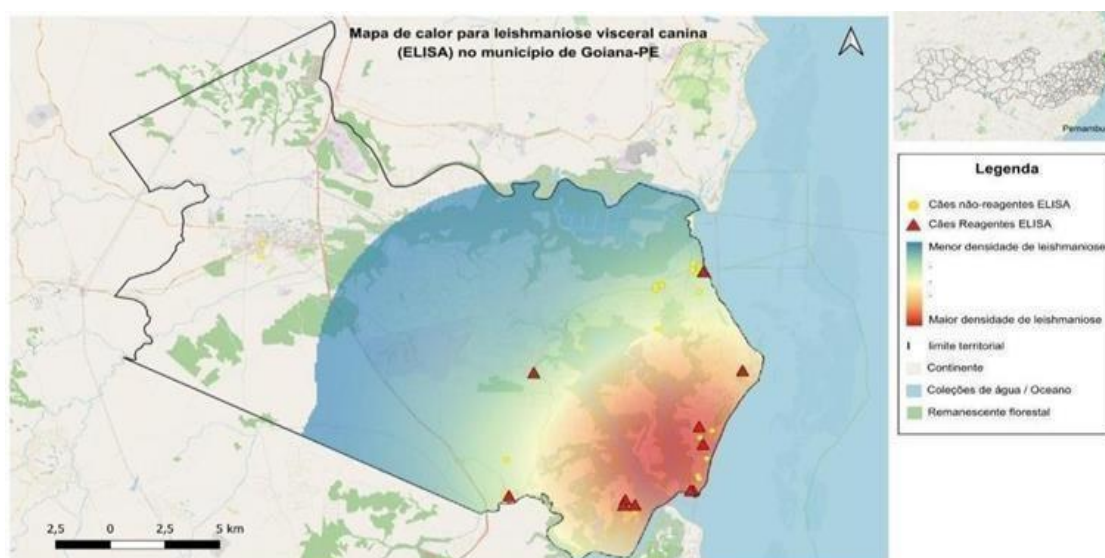


Fonte: O Autor (2025).

Em relação aos mapas de calor (*hotspot*) georreferenciados, observamos as áreas de

coloração mais vermelha como as de maior densidade de cães reagentes para LVC no município de Goiana/PE. Notamos, também, que as áreas de maior densidade de cães reagentes coincidem com áreas de coleções de águas e de áreas com resquícios florestais.meio de PCR (Figura 7).

Figura 7: Mapa de calor (*hotspot*) de cães diagnosticados como reagentes para LVC no teste de ELISA® do município de Goiana/PE no período de junho de 2023 a junho de 2024



Fonte: O Autor (2025).

8 DISCUSSÃO

A análise dos resultados obtidos neste estudo revela dados importantes sobre a prevalência de cães LVC em Goiana-PE, bem como, sobre as localidades onde foram indentificadas a presença de matas, rios, resquícios de florestais, desmatamento e muito material em decomposição que por sua vez proporcionam o aumento das características demográficas dos cães afetados. No presente estudo dos 88 cães avaliados, 46 (52,3%) foram diagnosticados como reagentes, enquanto 42 (47,7%) foram não reagentes, corroborando com o estudo de Silva *et al* (2021a) no qual relata que no Brasil a prevalência de LVC pode variar de 4% a 75%, dependendo da região avaliada e do método diagnóstico utilizado. Outro estudo realizado em regiões endêmicas do Brasil, relataram uma prevalência semelhante em áreas rurais do estado de Pernambuco, variando de 40% a 70% (Oliveira *et al.*, 2020).

A variação nos resultados obtidos com os métodos diagnósticos DPP[®], ELISA[®] e PCR) reflete a complexidade da detecção da LVC. No presente estudo, o DPP[®] se mostrou o teste com maior sensibilidade, o que está em linha com o trabalho de Oliveira *et al.* (2024), que evidenciaram que o DPP[®] é altamente eficaz para triagem inicial, mas com uma especificidade reduzida, especialmente em áreas com alta carga de infecção assintomática. Já o ELISA[®] mostrou maior especificidade, como evidenciado por Silva *et al.* (2021), que destacam a superioridade do ELISA[®] na diferenciação entre infecções ativas e passadas, fundamental para o controle da doença.

No entanto, a baixa sensibilidade do PCR neste estudo, especialmente em cães com carga parasitária baixa, é consistente com os achados de Figueiredo *et al.* (2018), que observam que o PCR é um método altamente sensível, mas depende da escolha correta do material biológico. O uso do PCR para detectar DNA do parasita em tecidos mais específicos, como linfonodos e medula óssea, pode aumentar a precisão do diagnóstico.

No estudo de Sevá *et al.* (2021), foi recomendado que a combinação de testes sorológicos com PCR aumentaria a eficácia na identificação de cães assintomáticos, um desafio comum nas áreas endêmicas. Outro aspecto relevante, como discutido por Grimaldi *et al.* (2012), é a alta especificidade do PCR em detecção de infecção ativa, embora com custo elevado e necessidade de infraestrutura laboratorial mais complexa. Em áreas de difícil acesso, como as de Goiana/PE, o DPP[®] é uma boa opção para triagem inicial, mas o diagnóstico definitivo deve ser confirmado por testes como ELISA[®] e, em casos mais avançados, pelo PCR.

Nesse estudo quanto ao sexo dos cães a maior prevalência dos positivos foram os

machos e adultos. Corroborando com nosso, um estudo realizado por Silva *et al.* (2021b), identificou que os machos têm maior risco de infecção devido ao seu comportamento territorial e maior tempo de exposição ao vetor. A literatura científica também sugere que os cães machos são mais frequentemente usados como cães de guarda, permanecendo por mais tempo ao ar livre e aumentando suas chances de contato com o vetor (Grimaldi *et al.*, 2012).

Além disso, a maior incidência de LVC em cães adultos pode ser explicada pela maior exposição ao vetor ao longo do tempo, como destacado por Araújo *et al.* (2021), que relataram uma correlação entre a idade dos cães e a prevalência de infecção, com cães adultos sendo mais suscetíveis devido ao longo período de contato com áreas endêmicas. Por outro lado, cães mais jovens podem ser menos suscetíveis, mas ainda assim podem ser infectados, principalmente em áreas de alta pressão vetorial.

Os resultados deste estudo indicaram maior prevalência de cães positivos para LVC entre os machos adultos, achado consistente com a literatura científica. Silva *et al.* (2021b) relataram que cães machos apresentam risco aumentado de infecção, em função do comportamento territorial e do maior tempo de exposição ao vetor. Esse padrão pode ser explicado pelo fato de que os machos, com frequência, são utilizados como cães de guarda, permanecendo por mais tempo em ambientes externos, o que amplia suas chances de contato com os flebotomíneos vetores da doença (Grimaldi *et al.*, 2012).

Além do sexo, a variável idade também se mostrou relevante. A maior prevalência em cães adultos corrobora os achados de Araújo *et al.* (2021), que descreveram uma correlação positiva entre idade e infecção por *Leishmania*, sugerindo que a exposição cumulativa ao vetor ao longo dos anos aumenta a susceptibilidade à LVC. Dessa forma, cães adultos apresentam maior probabilidade de infecção em áreas endêmicas devido ao contato prolongado com os vetores. Por outro lado, embora os cães jovens sejam considerados menos suscetíveis, não estão isentos de infecção, especialmente em regiões com elevada pressão vetorial, onde a transmissão pode ocorrer precocemente.

Esse dado reforça a importância da vigilância em todas as faixas etárias, uma vez que a manutenção da cadeia de transmissão não se restringe apenas aos adultos. Em síntese, nossos resultados estão em consonância com estudos prévios e reforçam a necessidade de considerar sexo e idade como variáveis importantes no delineamento de estratégias de controle da LVC, sobretudo em áreas endêmicas como Goiana/PE.

No presente estudo, o número total de flebotomíneos capturados foi consideravelmente inferior ao observado em investigações semelhantes previamente descritas na literatura (Silva;

Honer, 2007; Alves *et al.*, 2023). Essa discrepância pode estar associada a diferentes fatores ambientais e sazonais (Oliveira *et al.*, 2010; Reis *et al.*, 2019), bem como a aspectos metodológicos, como variações nas condições climáticas, no período de coleta, no tipo e posicionamento das armadilhas e na densidade populacional local dos vetores.

Apesar do número reduzido de espécimes coletados, ressalta-se a persistência de fatores determinantes para a ocorrência da LV no município, em especial a presença contínua de cães infectados por *Leishmania infantum*. Carreira-Alves *et al.* (2008) destacam que a maior frequência de captura de flebotomíneos tende a ocorrer nos meses de maior índice pluviométrico, geralmente entre setembro e fevereiro. No presente estudo, entretanto, as coletas ocorreram predominantemente fora desse período, o que pode ter contribuído para a menor densidade populacional dos vetores observada.

Corroborando com esse achado, pesquisas em outros contextos também evidenciam variações significativas na captura de flebotomíneos. Em estudo conduzido na zona urbana de Patos de Minas, por exemplo, não foi registrada a presença de *Lutzomyia longipalpis* nas áreas monitoradas, reforçando a influência de fatores ambientais e espaciais sobre a distribuição desses vetores.

Em síntese, embora a densidade vetorial identificada neste estudo tenha sido reduzida, a combinação de fatores ambientais, metodológicos e epidemiológicos sugere que o risco de transmissão da LV permanece presente. Esse cenário reforça a necessidade de vigilância entomológica contínua e integrada ao monitoramento de reservatórios caninos, alinhada às estratégias de controle em áreas endêmicas.

Estudos recentes, como o de Lima *et al.* (2022), demonstram que a urbanização e as mudanças no uso da terra têm influenciado diretamente a distribuição geográfica do vetor *Lutzomyia longipalpis*, aumentando a incidência da LVC tanto em áreas urbanas quanto rurais. Esses achados reforçam que regiões com fragmentos de mata e resquícios florestais devem ser priorizadas em programas de vigilância e controle, uma vez que esses ambientes oferecem condições ideais para a reprodução e manutenção do vetor.

No presente estudo, verificou-se que as áreas de captura dos flebotomíneos coincidiam com distritos caracterizados pela presença de matas, cursos d'água e grande quantidade de matéria orgânica em decomposição, configurando habitats propícios à sua proliferação. Essa observação corrobora os resultados de Souza *et al.* (2020), que identificaram a expansão do vetor em áreas menos desmatadas, evidenciando que, mesmo com avanços na infraestrutura urbana, o controle da leishmaniose enfrenta desafios significativos devido à capacidade

adaptativa do vetor a ambientes modificados pelo homem.

A correlação entre a presença de vegetação e o aumento da prevalência da LVC foi amplamente confirmada neste estudo e encontra respaldo nos achados de Almeida *et al.* (2023), que destacam a relação entre áreas florestadas e maior incidência da doença, em decorrência da abundância de *Lutzomyia longipalpis*. Nessas regiões, o vetor encontra abrigo, condições adequadas para o ciclo reprodutivo e acesso a fontes de alimentação, aumentando o risco de infecção em cães mantidos nesses ambientes.

Costa *et al.* (2022) acrescentam que o processo de urbanização pode modificar o habitat natural do vetor, forçando sua migração para áreas periféricas e residenciais. Assim, zonas urbanas e periurbanas que anteriormente eram classificadas como de baixo risco tornaram-se vulneráveis à transmissão da doença. Paralelamente, Souza *et al.* (2020) ressaltam que o desmatamento e a expansão de infraestrutura alteram a dinâmica vetorial, favorecendo a adaptação do inseto a novos contextos ecológicos.

Embora medidas tradicionais de controle vetorial, como a eliminação de criadouros e o uso de inseticidas, tenham se mostrado eficazes em determinadas regiões (Figueiredo *et al.*, 2018), tais estratégias isoladas não são suficientes para enfrentar a complexidade da transmissão da LVC. É imprescindível considerar as mudanças no uso da terra e as características ambientais específicas de cada localidade no planejamento de intervenções.

Este estudo, ao analisar a prevalência e a dinâmica da LVC no município de Goiana-PE, evidencia que a compreensão dos fatores de risco envolvidos ainda é limitada, o que representa um desafio significativo para o controle da doença. A literatura aponta que aspectos relacionados ao manejo dos cães, associados à presença de criadouros do vetor, desempenham papel central na manutenção da transmissão Costa *et al.* (2022). Além disso, a ausência de estratégias de controle consistentes e o baixo nível de conscientização da população local sobre a doença contribuem de forma direta para a disseminação do parasita.

Segundo Lima *et al.* (2022), é fundamental que estudos futuros aprofundem a análise da interação entre condições ambientais e práticas de manejo adotadas pelos tutores de cães, de modo a subsidiar programas de prevenção mais eficazes. Nesse sentido, a integração entre medidas tradicionais de controle vetorial como o uso de inseticidas e a eliminação de criadouros e estratégias educativas voltadas à população, especialmente aos tutores de cães, surge como abordagem promissora.

Outro aspecto a ser destacado é a necessidade urgente de expandir as pesquisas sobre a epidemiologia da LVC em áreas periurbanas e rurais. Araújo *et al.* (2021) ressaltam que

compreender a interação entre o comportamento dos cães e os fatores ambientais é essencial para o desenvolvimento de estratégias de controle mais robustas e adaptadas às realidades locais.

Diante desse cenário, torna-se evidente que apenas a integração entre estratégias ambientais e ações de saúde pública poderá garantir maior eficácia no controle da LV. Essa abordagem integrada, alinhada ao conceito de Saúde Única (One Health), é fundamental para reduzir a prevalência da doença e mitigar seus impactos sobre a saúde canina, humana e ambiental.

9 CONCLUSÃO

A análise da prevalência de LVC no município de Goiana/PE evidencia uma elevada carga de infecção canina, com 52,3% dos animais reagentes para a doença. Esse cenário é agravado pela combinação de fatores como a presença de áreas de mata, a ampla distribuição do vetor *Lutzomyia longipalpis* e os fatores de risco comportamentais e ambientais, especialmente a maior exposição de cães machos e adultos. Tais achados reforçam a urgência da implementação de ações integradas de controle.

A adoção combinada de testes diagnósticos, como DPP[®], ELISA[®] e PCR, deve ser priorizada para aumentar a sensibilidade e a especificidade da detecção da infecção. Além disso, o fortalecimento das estratégias de controle vetorial e ambiental é fundamental para mitigar a transmissão. O monitoramento contínuo da vigilância entomológica, integrado ao acompanhamento sistemático dos reservatórios caninos, representa uma estratégia essencial para reduzir a prevalência da LVC em áreas endêmicas. Dessa forma, medidas articuladas entre diagnóstico, controle do vetor e manejo dos reservatórios constituem o caminho mais eficaz para conter a disseminação da doença e proteger a saúde pública.

REFERÊNCIAS

- ABRANTES T. R. et al. Fatores ambientais associados à ocorrência de leishmaniose visceral canina em uma área de recente introdução da doença no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 34, n. 1, p. 1-12. 2018.
- AGUIAR, P. F.; RODRIGUES, R. K. Leishmaniose visceral no Brasil: artigo de revisão. **Unimontes Científica**. v. 19, n. 01, p.191-204. 2017.
- ALMEIDA, F., *et al.* The ecological factors that influence the transmission of visceral leishmaniasis in rural areas of Brazil. **Science of the Total Environment**, n. 789, 147789, 2023.
- ALMEIDA, V. A. **Alterações na medula óssea e distúrbios hematológicos na leishmaniose visceral canina**. 2017. 101 p. Tese [Doutorado em Patologia]. Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2017.
- ALVES, G. *et al.* Investigação Preliminar da Fauna de Flebotomíneos e Seu Potencial Vetorial em Ambientes Urbanos de Volta Redonda. **In: Tudo é ciência: Congresso Brasileiro de Ciências e Saberes Multidisciplinares**. 2023.
- ANDRADE, A. S. R. Avaliação do swab conjuntival em inquérito canino e comparação de métodos de PCR para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina. **Gerais: Revista de Saúde Pública do SUS/MG**, v. 1, n. 1, p. 53-54, 2017.
- ARAÚJO D. C. Análise espacial dos casos humanos de leishmaniose visceral. **Arq Ciênc Saúde**, v. 24, n. 2, p. 71-75, 2016.
- ARAÚJO, A. S., *et al.* Canine visceral leishmaniasis: clinical, immunological and diagnostic aspects. **Veterinary Parasitology**, v. 288, 1-10, 2021.
- AYRES, C. F. J. *et al.* Genetic Diversity in Brazilian Populations of *Aedes albopictus*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 6, p. 871-875, 2002.
- BANETH, G.; SHAW, S. E. Chemotherapy of canine leishmaniosis. **Veterinary parasitology**, v. 106, n. 4, p. 315-324, 2002.
- BRASIL. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. 1 ed., 5ª reimp. Brasília: Ministério da Saúde, 201 BRASIL. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. 1a ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.
- BRASILEISH. **Diretrizes para o diagnóstico, estadiamento, tratamento e prevenção da leishmaniose canina**. Diretrizes. Brasileish. 2018.
- CARREIRA-ALVES, J. R. Espécies de Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) da fazenda São José, município de Carmo, estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, vol. 37, n. 4, 2008.
- CARVALHO, M. R. *et al.* Canine visceral leishmaniasis: perception, prevalence, and spatial

distribution in municipality of Nossa Senhora do Livramento, Mato Grosso, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 29, n. 2, p. e021019, 2020.

CAVALCANTI, A. S. *et al.* Parasite load induces progressive spleen architecture breakage and impairs cytokine mRNA expression in *Leishmania infantum*-naturally infected dogs. **PLoS One**, v. 10, n. 4, p. 09-12, 2015.

CEVA. **Saúde Animal LeishTec**. Disponível em: <https://www.ceva.com.br/Produtos/Lista-de-Produtos/LEISHTEC>. Acesso em: 02 de maio de 2024.

CHAGAS, A. C. S. *et al.* Combination therapy with a low dose of miltefosine and allopurinol for the treatment of canine leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, v. 234, p. 1-6, 2017.

COSTA, M. J., *et al.* Urbanization and its impact on the transmission of visceral leishmaniasis: A review of recent studies. **Environmental Health Perspectives**, v. 130, n. 9, p. 960-970, 2022.

DANTAS-TORRES, F. Canine leishmaniosis in South America. **Parasites Vectors** 2, Suppl abr. 1, S1, 2009.

DANTAS-TORRES, F. *et al.* A. Level of agreement between two commercially available rapid serological tests and the official screening test used to detect *Leishmania* seropositive dogs in Brazil. **Vet J.**, v. 234, p.102-104, 2018.

DINIZ, Soraia A. *et al.* Animal reservoirs for visceral leishmaniasis in densely populated urban areas. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 2, n. 01, p. 024-033, 2008.

EVARISTO, A. M. C. F. *et al.* Canine leishmaniasis in the semi-arid region of Pernambuco, northeastern Brazil: epidemiology, factors associated with seropositivity and spatial analysis. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 29, n. 2, p. e001120, 2020.

FERNANDES, C. F.; FERREIRA, J. P.; CARVALHO, T. L. Leishmaniose visceral canina: uma revisão de literatura. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v.25, n. 2,p. 82-89, 2018.

FIGUEIREDO, A. B. F. *et al.* Uso e cobertura do solo e prevalência de leishmaniose visceral canina em Teresina, Piauí, Brasil: uma abordagem utilizando sensoriamento remoto orbital. **Cadernos de Saúde Pública**. v. 33, n. 10, p. e00093516, 2017.

FIGUEIREDO, F., *et al.* The impact of deforestation on the transmission dynamics of visceral leishmaniasis in Northeast Brazil. **PLOS ONE**, v. 13, n. 10, p. e0205851, 2018.

GALATI, E. A. B. Classificação de phlebotominae e morfologia, terminologia de adultos e identificação dos táxons da América. **In:** RANGEL, E. F.; LAINSON,R. (org.). *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Ed. FIOCRUZ, 2014.

GONÇALVES, A. L.; RODRIGUES, L. V.; CAMPOS, M. B. F. Cenários epidemiológicos da leishmaniose visceral canina em Minas Gerais: uma análise espacial. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 18, n. 4, p. 821-831, 2015.

GONTIJO, C. M., MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e

perspectivas. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, n. 3, p. 338-49., 2004.

GREENE, C. E. **Doenças infecciosas em cães e gatos**. Rio de Janeiro: Grupo GEN, 2015. E-book. ISBN 978-85-277-2725-9. Disponível em: <https://appminhabiblioteca.com.br/#/books/978-85-277-2725-9/>. Acesso em: 18 abr. 2024.

GRIMALDI, G. *et al.* Molecular epidemiology and control of canine leishmaniasis in endemic areas. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 2, n. 2, p. 102-114, 2012.

GUALDA, K. P. *et al.* New primers for detection of *Leishmania infantum* using polymerase chain reaction. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.57, n.5, p.377-383, 2015.

JERICÓ, M. M. *et al.* **Tratado de medicina interna de cães e gatos**. 2 v. Rio de Janeiro: Grupo GEN, 2014. E-book. 4 ISBN 978-85-277-2667-2.

KRAUSPENHAR, C. *et al.* Leishmaniose visceral em um canino de Cruz Alta, Rio Grande do sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 37, p. 907-910, 2007.

LEISHVET. **Canine and feline leishmaniosis: practical management of canine and feline leishmaniosis**. 4. ed. Madrid: Universidad Complutense de Madrid. 2018.

LIMA, A L. M. *et al.* Changing epidemiology of visceral leishmaniasis in northeastern Brazil: a 25-year follow-up of an urban outbreak. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 111, n. 10, p. 440-447, 2021.

LIMA, V. M., *et al.* Canine visceral leishmaniasis: New epidemiological trends in urban and periurban areas. **Frontiers in Veterinary Science**, 9, 825618, 2022.

MAIA, C.; CAMPINO, L. Canine leishmaniasis in Portugal: Review of 2001–2016. **Veterinary Parasitology**, v. 251, p. 108-115, 2018.

MAIA-ELKHOURY, A. N. S.; ALBUQUERQUE, R.; SALOMÓN, O. D. Leishmaniasis Vector Surveillance and Control in Brazil: A Challenge to Control Programs. In: *Brazilian Sand Flies*. **Springer, Cham**, 2018. p. 467–494, 2018.

MAROLI, M. *et al.* Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 27, n. 2, p. 123-147, 2013.

MARTINS, C. P. *et al.* Monitoramento epidemiológico como instrumento de apoio à gestão de saúde: análise das notificações de leishmaniose visceral em Sobral, Ceará. **Revista de Administração em Saúde**, [S.L.], v. 18, n. 72, p. 01-06, 16 jul. 2018.

MEGID, J.; RIBEIRO, M. G.; PAES, A. C. **Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia**. Rio de Janeiro: Roca, 2016.

MIRANDA, L. G. S.; GOMES, L. I. FERREIRA, F. N. Tratamento da leishmaniose visceral canina: revisão de literatura. **Ciência Animal Brasileira**, v. 19, n. 2, p. 195-207, 2018.

MOREIRA, A. M. Aspectos fundamentais da leishmaniose cutânea no Brasil. Capítulo 7. **In: TOLEDO, Marileila Marques. (org.) Ações de Saúde e geração de conhecimento nas ciências médicas 3.** [recurso eletrônico]. Ponta Grossa, PR: Atena, 2020.

NASCIMENTO, M. D. S. B. *et al.* Prevalência de infecção por *Leishmania chagasi* utilizando os métodos de ELISA (rK39 e CRUDE) e intradermoreação de Montenegro em área endêmica do Maranhão, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 21, p. 1801-1807, 2005.

OLIVEIRA, G. M. G. *et al.* Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) no Município de Três Lagoas, área de transmissão intensa de leishmaniose visceral, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 1, n. 3, p. 83-94, 2010.

OLIVEIRA, L. G; FERNANDES, R. L; FARIAS, L. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. Isolated from broiler chickens Brazil. **Poultry Science**, v. 100, n. 5, p. 101-123, 2021.

OLIVEIRA, S. P. **Manejo ambiental para o controle vetorial da leishmaniose visceral em áreas endêmicas do município de Mossoró, Rio Grande do Norte.** 2020.f51. Dissertação [Mestre em Ambiente, Tecnologia e Sociedade]. Universidade Federal Rural do Semi-Árido (Ufersa), Mossoró/RN, 2020.

OLIVEIRA, T. C. B. *et al.* Finding Priority Areas in the Evaluation of Strategies for the Prevention of Leishmaniasis in an Endemic Municipality of Brazil. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 9, n. 5, p. 115, 2024.

OPAS. Organização Pan-Americana da Saúde. **Leishmanioses: informe epidemiológico das Américas.** N. 12, p. 1-14, dez. 2023.

PACHECO, C. F.; LIMA, M. L.; RODRIGUES, P. F. Molecular detection and genetic characterization of *Toxoplasma gondii* in wild rodents from the Amazon region of Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 107, n. 3, p. 472-478, 2021.

PECH-MAY A. *et al.* Genetic diversity, phylogeography and molecular clock of the *Lutzomyia longipalpis* complex (Diptera: Psychodidae). **PLoS Neglected Tropical Diseases**. 2018.

PEREIRA, L. *et al.* The impact of climate change on the geographical distribution of two vectors of canine leishmaniasis in Brazil. **Parasites & Vectors**, v. 11, n. 1, p. 1-8, 2018.

PIMENTA, P. F. P. *et al.* Biology of the *Leishmania* – sand fly interaction. In: **Brazilian Sand Flies. Springer, Cham**, p. 319-339, 2018.

PIRES, B. C. **Avaliação hematológica, bioquímica, histopatológica e parasitológica de cães naturalmente infectados por *Leishmania infantum*.** 2022. 77 p. Tese [Doutorado em Clínica e Reprodução Animal]. Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2022.

QUINNELL, R. J.; COURTENAY, O. Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis. **Parasitology, London**, v. 136, n. 14, p.1, 2009.

REIS, L. L. *et al.* Leishmaniose visceral e sua relação com fatores climáticos e ambientais no Estado do Tocantins, Brasil, 2007 a 2014. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 35, n.1, p. 1-8. 2019.

SANTOS, A. S.; SILVA, E. G.; GONÇALVES, R. C. *et al.* Canine visceral leishmaniasis and associated factors in dogs from rural settlements in the state of Mato Grosso, Brazil. **Journal of Infection and Public Health**, v. 14, n. 1, p. 80-85, 2021.

SEVÁ, S., *et al.* Diagnostic tests for canine visceral leishmaniasis: a critical review. **Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 3, p. e0008977, 2021.

SILVA, A. M. *et al.* Diversidade, distribuição e abundância de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) no Paraná. **Revista Public Health – Neotropical entomology**, v. 37, n. 2, p. 209-25, 2008.

SILVA, E. A.; ANDREOTTI, R.; HONER, M. R. Comportamento de *Lutzomyia longipalpis*, vetor principal da leishmaniose visceral americana, em Campo Grande, Estado do Mato Grosso do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, p. 420-425, 2007.

SILVA, L. A., *et al.* Comparative analysis of diagnostic tests for canine visceral leishmaniasis in endemic areas. **Parasitology Research**, n. 120, v. 7, p. 2451-2460, 2021b.

SILVA, R. R. *et al.* **Visceral leishmaniasis in dogs in Brazil**: literature review. 2021a.

SILVA, S. S. *et al.* Canine visceral leishmaniasis: risk factors and spatial analysis in an endemic area of Northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 32, p. e003223, 22 mai. 2023.

SOLANO-GALLEGO, L. *et al.* LeishVet guidelines for practical management of canine leishmaniosis. **Parasites and Vectors**. London, v. 4, p. 86, 2011.

SOUZA, M. A., *et al.* Environmental and anthropogenic factors influencing the spread of visceral leishmaniasis in Pernambuco, Brazil. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 14, n. 12, p. e0008765, 2020.

TOEPP, A. *et al.* Randomized, controlled, double-blinded field trial to assess *Leishmania* vaccine effectiveness as immunotherapy for canine leishmaniosis. **Vaccine**, v. 36, n. 43, p. 6433-6441, 2018.

WHO. World Health Organization. Leishmaniasis. **Geneva**: World Health Organization. 2020. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>. Acesso em: 24 fev. 2024.

Anexo A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Aggeu Magalhães

Versão 1/2021

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Convidamos o senhor(a) a participar com o seu animal da pesquisa intitulada **“Dinâmica da transmissão da leishmaniose visceral canina no município de Goiana/PE: identificação de casos, avaliação da presença de *Leishmania infantum* em *Lutzomyia* spp. e determinação dos pontos de risco para a transmissão da doença.**” que será desenvolvida pelo Instituto Aggeu Magalhães da Fundação Oswaldo Cruz (IAM/FIOCRUZ), sob a responsabilidade do(a) pesquisador(a) Dr. Luiz Carlos Alves, Av. Professor Moraes Rego, s/n – Cidade Universitária – Recife/PE. CEP 50.740-465. Telefone: (81) 2101.2643, e-mail: luizcarlos.alves@fiocruz.br, CNPJ: 33.781.055/0007-20 e CIAEP: 01.0410.2015 da Comissão de Ética no Uso de Animais do IAM. O objetivo do estudo é: Identificar e localizar cães positivos para a doença chamada Leishmaniose Visceral, que é uma doença transmitida por um inseto. Essa doença pode causar vários sintomas no animal, como desnutrição, fraqueza e pode levar a morte do cão. Essa doença também pode ser passada do cão para as pessoas por causa do inseto que transmite. Com este estudo queremos localizar todos os cães que possam ter essa doença, e assim ter um retrato da leishmaniose visceral em Goiana/PE.

Solicitamos a sua autorização para coletar **10mL de sangue do seu(s) cão(ões)**, que é a quantidade igual a de **2 colheres de chá**. O(s) seu(s) cão(ões) será(ão) contido(s) com uma focinheira para que ele(s) não morda(m) ninguém, depois vamos limpar o local da pata com álcool 70% e então vamos usar uma agulha para coletar o sangue do(s) animal(ais). Depois de tirar essa quantidade de sangue, iremos retirar a focinheira e liberar o(s) seu(s) animal(ais). Após 15 dias iremos lhe entregar o resultado do exame. **Se der positivo no exame, a prefeitura de Goiana/PE realizará outros exames complementares, e se confirmando a positividade, a prefeitura irá orientar a você sobre a remoção do animal ou sobre o tratamento do mesmo animal com exames periódicos, que seria de responsabilidade do tutor.**

Todas as suas dúvidas podem ser esclarecidas com o responsável por esta pesquisa. Apenas quando todos os esclarecimentos forem dados e o senhor(a) concorde com a realização do estudo, pedimos que rubrique as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma via lhe será entregue e a outra ficará com o pesquisador responsável.

Sua autorização para a inclusão do(s) seu(s) animal(is) nesse estudo é voluntária. Seu(s) animal(is) poderá(ão) ser retirado(s) do estudo, a qualquer momento, sem que isso cause qualquer prejuízo a ele(s). A confidencialidade dos seus dados pessoais será preservada.

Esclarecimentos ao proprietário sobre a participação do animal neste projeto:

A sua residência e o seu(s) animal(ais) estão em uma área considerada como de risco de transmissão da leishmaniose, ou seja, nesta área pode existir pessoas e animais doentes com a leishmaniose. O nosso estudo quer saber onde existem animais doentes com leishmaniose para termos certeza das áreas que realmente estão em risco. A participação do(s) seu(s) animal(ais) é muito importante nesse esclarecimento.

Potenciais riscos para os animais:

Neste estudo o seu(s) animal(ais) terão o risco de sentirem dor. O(s) cão(ões) pode(m) sentir dor no momento da coleta de sangue por causa da agulha, e essa dor pode durar até o dia seguinte.

Benefícios:

O nosso estudo irá retribuir com benefícios para os residentes da área. Que é a ajuda que o nosso estudo trará com seus resultados no planejamento de ações de prevenção da doença nas áreas estudadas. O(s) seu(s) animal(ais) e os moradores da área poderão se beneficiar da



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Aggeu Magalhães

Versão 1/2021

prevenção da leishmaniose, e assim conseguir evitar que alguém ou algum animal fique com a doença.

Cronograma:

O estudo terá início no mês de março de 2023 (a partir de 02/03/23 a depender da aprovação no comitê de ética em pesquisa de animais) e finalizará até junho de 2024.

Os membros da CEUA ou as autoridades regulatórias poderão solicitar suas informações, e nesse caso, elas serão dirigidas especificamente para fins de inspeções regulares.

O Médico Veterinário responsável pelo(s) seu(s) animal(is) será a Dra Gilsan Aparecida de Oliveira, inscrito (a) no CRMV sob o nº 00655. Além dele, a equipe do pesquisador principal Dr Luiz Carlos Alves também se responsabilizará pelo bem-estar do(s) seu(s) animal(is) durante todo o estudo e ao final dele. Quando for necessário, durante ou após o período do estudo, você poderá entrar em contato com o Pesquisador Principal ou com a sua equipe pelos contatos:

Tel. de emergência: 81 99137-9971 / 81 99168-7915 / 81 99168-7916

Equipe: Dr Fábio André Brayner dos Santos, Dr Alberon Ribeiro de Araújo, Sergio Florêncio da Costa.

Endereço: Av. Professor Moraes Rego, s/n – Cidade Universitária – Recife/PE. CEP 50.740-465.

Telefone: 2101-2643

Declaração de consentimento

Fui devidamente esclarecido (a) sobre todos os procedimentos deste estudo, seus riscos e benefícios ao (s) animal (is) pelo (s) qual (is) sou responsável. Fui também informado que posso retirar meu (s) animal (is) do estudo a qualquer momento. Ao assinar este Termo de Consentimento, declaro que autorizo a participação do (s) meu (s) animal (is) identificado (s), a seguir, neste projeto.

Este documento será assinado em duas vias, sendo que uma via ficará comigo e outra com o pesquisador.

(Goiana/PE), ____/____/____

Assinatura do Responsável pelo animal(is)

Assinatura do Pesquisador Responsável

Nome: _____


Documento de Identidade: _____

Identificação do(s) animal(is) _____

Nome: _____ Número de identificação: _____

Espécie: _____ Raça: _____

Anexo B - SISTEMA GERENCIADOR DE AMBIENTE LABORATORIAL - GAL

 República Federativa do Brasil Ministério da Saúde		Sistema Gerenciador de Ambiente Laboratorial - GAL Protocolo de Investigação Animal Vertebrados - Simplificado	
IDT	1 N° do Protocolo de Campo:		2 N° do Processo
			FOLHA: 1 / 1
SOLICITANTE	3 Objetivo da Coleta: *		4 Descrição do Objetivo
	1 - Coleta 2 - Contra Prova 3 - Criação em Laboratório		5 - Espontânea 6 - Inquérito 7 - Investigação 8 - Levantamento 9 - Monitoramento 10 - Particular 11 - Projeto Pesquisa 12 - Surto
	6 Unidade do Solicitante: *		7 Código do CNES: *
	8 Município do Solicitante:		9 Código IBGE: *
COLETA (Localização)	11 Natureza do Solicitante: *		12 Nome do Solicitante: *
	13 Endereço: *		14 DDD / Telefone:
	15 E-Mail:		
	16 País da Coleta: *		17 Município da Coleta:
ÁREA	18 Código IBGE: *		19 UF:
	20 Zona: 1 - Urbana 2 - Periurbana 3 - Rural 4 - Silvestre		
	21 Localidade:		22 Código Localidade:
	23 Categoria da Localidade:		
Identificação	24 Endereço da Localidade: *		25 Referência da Localidade:
	26 DTAUM: 1 - SAD69 2 - wgs84		27 Unidade: 1 - Grau Decimal 2 - Não
	28 Área:		29 Latitude:
	30 Área:		31 Longitude:
CARACTERIZAÇÃO	32 Altitude (m):		
	33 Área: *		34 Grupo Animal: Tabela 1 *
	35 Nome Popular: *		36 Natureza: *
	37 Domiciliado: *		
AMOSTRA / PESQUISA	38 Nome do Animal: *		39 Número de Campo:
	40 Registro de Campo:		
	41 Proprietário: *		42 Endereço: *
	43 Sexo: *		44 Classificação Etária:
SINAN	45 Idade: Quantidade		46 Peso: Quantidade
	47 Tamanho: Quantidade		48 Deslocamento:
	49 Status Clínico: Tabela 2		50 Local da Lesão:
	51 Complemento Status Clínico:		
PÁGINA COMPLEMENTAR	52 Houve Contato com Humanos? *		53 Nível de Contato: *
	54 Agrediu a Humano? *		55 Tipo de Abrigo:
	56 Prática Caça ?		
	57 Contato com Outras Espécies? *		58 Quais?:
PÁGINA COMPLEMENTAR	59 Presença de Vetores Associados? *		60 Quais?:
	61 Agrupamento ou Pesquisa Solicitado: *		62 Amostra: *
	63 Material Biológico: * Tabela 3		64 Localização:
	65 Meio de Transporte: * Tabela 4		66 Material Clínico: * Tabela 5
PÁGINA COMPLEMENTAR	67 Data da coleta: *		68 Hora da coleta:
	72 Nome do Responsável pela Amostra:		73 Tipo de Documento:
	74 N° de Identificação:		75 UF:
	76 DDD / Telefone:		77 E-mail:
PÁGINA COMPLEMENTAR	78 Agravado/Doença:		79 CID 10: *
	80 N° Notificação do SINAN: *		81 Data de Notificação: *
	82 Unidade de Saúde Notificante:		83 CNES: *
	84 Município de Notificação:		85 Código IBGE: *
PÁGINA COMPLEMENTAR	86 Observações:		

*Campo de preenchimento obrigatório

Anexo C - FICHA DE CADASTRO DE CÃES



Projeto: Dinâmica da transmissão da leishmaniose visceral canina no município de Goiana/PE. **OLIKA**
identificação de casos, avaliação da presença de *Leishmania infantum* em *Lutzomyia* spp. e INSTITUTO OLIKÁ
determinação dos pontos de risco para a transmissão da doença.

FICHA DE CADASTRO DOS CÃES

IDENTIFICAÇÃO DO CÃO

Nome do cão: _____ Sexo: _____ Idade: _____
() Raça Qual? _____ () Sem raça definida
Nome do Tutor: _____
Endereço: _____ Bairro: _____
_____ Cidade: _____ Telefone: () _____

AValiação CLÍNICA

Classificação: _____

Sintomas	Score clínico				
	Ausente	Leve	Moderado	Severo	Pontuação
Alopécia					
Dermatite					
Úlceras cutâneas					
Onicogrifose					
Conjuntivite					
Anorexia/tia					
Linfadenopatia					

Escala: ausente (0); leve (1); moderado (2); severo (3)

Classificação: assintomático (0-2); oligossintomático (3-6); polissintomático (7-18) (QUINNELL et al. 2002).

Goiana, ____ de _____ de 20 ____.

Responsável pela pesquisa

Instituto Aggeu Magalhães-IAM/FIOCRUZ
Av. Professor Moraes Rego, s/n – Cidade Universitária – Recife/PE. CEP 50.740-465.