

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO  
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE SINOP  
Programa de Pós-Graduação em Ciências em Saúde**

**OCORRÊNCIA DE LEISHMANIOSE EM CÃES DE  
ABRIGO NA REGIÃO NORTE DE MATO GROSSO:  
ANÁLISE CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICA**

**LURYAN MIKAELLY MINOTTI MELO**

**Sinop, Mato Grosso  
Fevereiro, 2025**

**LURYAN MIKAELLY MINOTTI MELO**

**OCORRÊNCIA DE LEISHMANIOSE EM CÃES DE  
ABRIGO NA REGIÃO NORTE DE MATO GROSSO:  
ANÁLISE CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICA**

Orientador: Prof. Dr. Bruno Gomes de Castro

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências em Saúde da Universidade Federal de Mato Grosso, *Campus* Universitário de Sinop, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências em Saúde.

Sinop, Mato Grosso  
Fevereiro, 2025

## Dados Internacionais de Catalogação na Fonte.

M528o Melo, Luryan Mikaelly Minotti.

Ocorrência de leishmaniose em cães de abrigo na região Norte de Mato Grosso: análise clínico-epidemiológica [recurso eletrônico] / Luryan Mikaelly Minotti Melo. -- Dados eletrônicos (1 arquivo : 64 f., il. color., pdf). -- 2025.

Orientador: Bruno Gomes de Castro.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Mato Grosso, Instituto de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências em Saúde, Sinop, 2025.

Modo de acesso: World Wide Web: <https://ri.ufmt.br>.

Inclui bibliografia.

1. leishmaniose visceral canina. 2. *Leishmania infantum*. 3. dual-path platform (DPP). I. de Castro, Bruno Gomes, *orientador*. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Permitida a reprodução parcial ou total, desde que citada a fonte.



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO**  
**PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS EM SAÚDE**  
**FOLHA DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO:** "OCORRÊNCIA DE LEISHMANIOSE EM CÃES DE ABRIGO NA REGIÃO NORTE DE MATO GROSSO: ANÁLISE CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICA"

**AUTOR (A):** MESTRANDO (A) **LURYAN MIKAELLY MINOTTI MELO**

Dissertação defendida e aprovada em **28 de fevereiro de 2025**.

**COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA**

Doutor(a) Bruno Gomes de Castro (Presidente banca/Orientador(a))

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso

Doutor(a) Paulo Roberto Spiller (Examinador(a) Externo(a))

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso

Doutor(a) Cristiano Grisi do Nascimento (Examinador(a) Externo(a))

Instituição: Convolution Saúde Animal

Doutor(a) Michel Alves da Silva (Examinador(a) Suplente)

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso

Doutor(a) Eduardo Ferreira Faria (Examinador(a) Suplente)

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso

**SINOP, 25/02/2025.**



Documento assinado eletronicamente por **Paulo Roberto Spiller, Usuário Externo**, em 19/03/2025, às 18:08, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **BRUNO GOMES DE CASTRO, Docente da Universidade Federal de Mato Grosso**, em 19/03/2025, às 18:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **CRISTIANO GRISI DO NASCIMENTO, Usuário Externo**, em 20/03/2025, às 17:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [http://sei.ufmt.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](http://sei.ufmt.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **7736332** e o código CRC **10D12C34**.

## **AGRADECIMENTOS**

À minha família por ser a minha força, meu ponto de equilíbrio, meu lugar de paz e de alívio. Por me ensinarem os valores que carrego, admiro e que passarei adiante. Em especial a minha mãe Zilmara Cristina Minotti, por cada vez que confiou em mim, me admirou e acreditou, quando nem eu mesma acreditei.

Aos meus irmãos Giovanna Minotti Pereira da Silva e Eduardo Minotti Pereira, pelo amor incondicional que nasceu junto com vocês e por todo o carinho a mim enviado em todos esses anos distantes.

A minha avó Salvenia Maria Rodrigues Melo (In Memoriam) por ser a primeira a sonhar com a minha formação acadêmica, e em vida garantir que eu tivesse acesso à educação. Por jamais medir esforços por mim e por ainda me guiar e dar forças para continuar.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências em Saúde – Universidade Federal de Mato Grosso campus Sinop por possibilitar a educação continuada.

A Associação Protetora dos Animais do Município de Sinop (APAMS) – MT, por permitir a execução dessa pesquisa em seus queridos animais e por prestarem todo o apoio necessário. Aos meus colegas de trabalho, em especial a Cristian Felipe, Alice Elena e Clóvis Kitagawa pelo apoio nas coletas.

A toda a equipe do Centro de Endemias de Sinop-MT e Laboratório Central de Saúde Pública de Mato Grosso (LACEN-MT) pelo apoio durante o processamento de amostras.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Bruno Gomes de Castro, por me aceitar como sua orientada, sonhar junto e fornecer todos os subsídios para uma caminhada proveitosa e produtiva.

A todos que passaram pelo meu caminho e deixaram uma marca, que contribuiu para tudo o que sou e para até onde pude chegar.

## RESUMO

A leishmaniose visceral canina (LVC) é uma zoonose causada por protozoários do gênero *Leishmania*, transmitida por flebotomíneos, com os cães atuando como principais reservatórios. Este estudo teve como objetivo identificar a ocorrência de *Leishmania infantum* em cães de abrigo na região Norte de Mato Grosso e analisar o perfil clínico-epidemiológico dos animais positivos. Foram avaliados 200 cães, dos quais 26 (13%) foram soropositivos no teste imunocromatográfico Dual-Path Platform (DPP). As amostras foram submetidas ao teste confirmatório Enzimaimunoensaio (EIA), resultando em apenas 1 amostra positiva. Foi realizada a comparação entre o resultado dos testes sorológicos utilizados, sendo encontrado um valor de  $p=0,3299$ . Os dados foram analisados através do teste Qui-quadrado de Pearson e teste exato de Fisher a um nível de significância de 95%, utilizando o software GraphPad Prism 8. Foi realizada a análise clínico epidemiológica dos animais positivos no teste imunocromatográfico (DPP) e observou-se que a maioria dos cães infectados neste teste era adulta, sem raça definida, de pelagem curta, e apresentava sinais clínicos variáveis, como mucosas hipocoradas e escore corporal baixo, além de muitos animais assintomáticos. A coinfeção por *Ehrlichia spp.* e *Anaplasma spp.* foi significativa, sugerindo uma interação importante entre essas infecções e a LVC. Alterações hematológicas como anemia, trombocitopenia, eosinofilia e hiperproteinemia foram frequentes. Concluiu-se que cães de abrigo são potenciais focos de LVC, apresentando grande relevância para a saúde pública e a epidemiologia da LV em humanos. A vigilância epidemiológica e o manejo adequado desses animais são essenciais para o controle da doença, principalmente em áreas não endêmicas.

**Palavras-chave:** leishmaniose visceral canina; *Leishmania infantum*; dual-path platform (DPP).

## ABSTRACT

Canine visceral leishmaniasis (CVL) is a zoonosis caused by protozoa of the genus *Leishmania*, transmitted by sandflies, with dogs acting as the main reservoirs. This study aimed to identify the occurrence of *Leishmania infantum* in shelter dogs in the northern region of Mato Grosso and to analyze the clinical-epidemiological profile of positive animals. A total of 200 dogs were evaluated, of which 26 (13%) were seropositive in the Dual-Path Platform (DPP) immunochromatographic test. The samples were submitted to the confirmatory Enzyme Immunoassay (EIA) test, resulting in only 1 positive sample. The results of the serological tests used were compared, and a value of  $p=0.3299$  was found. Data were analyzed using Pearson's chi-square test and Fisher's exact test at a significance level of 95%, using the GraphPad Prism 8 software. The clinical epidemiological analysis of the animals positive in the immunochromatographic test (PPD) was performed and it was observed that most of the dogs infected in this test were adults, of mixed breed, with short coats, and presented variable clinical signs, such as pale mucous membranes and low body score, in addition to many asymptomatic animals. Co-infection with *Ehrlichia* spp. and *Anaplasma* spp. was significant, suggesting an important interaction between these infections and CVL. Hematological alterations such as anemia, thrombocytopenia, eosinophilia, and hyperproteinemia were frequent. It was concluded that shelter dogs are potential foci of CVL, presenting great relevance to public health and the epidemiology of VL in humans. Epidemiological surveillance and proper management of these animals are essential for disease control, especially in non-endemic areas.

**Keywords:** canine visceral leishmaniasis; *Leishmania infantum*; dual-path platform (DPP).

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Número de casos positivos e negativos de Leishmaniose Visceral Canina nos testes DPP e EIA;  $p=0,3299$ , teste exato de Fisher.....27
- Figura 2** - Perfil clínico epidemiológico de casos positivos para Leishmaniose Visceral Canina no teste DPP;  $p < 0,0001$ , qui quadrado.....29
- Figura 3** - Sexo dos casos positivos para Leishmaniose Visceral Canina no teste DPP;  $p > 0,9999$ , qui quadrado.....33
- Figura 4** - Alterações hematológicas de casos positivos para Leishmaniose Visceral Canina no teste DPP;  $p < 0,0001$ , qui quadrado.....34
- Figura 5** - Alterações clínicas em casos positivos de Leishmaniose Visceral Canina no teste DPP;  $p=0,0163$ , qui quadrado.....36

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	10
1.1 Leishmaniose visceral canina .....	13
1.2 Diagnóstico da leishmaniose visceral canina.....	15
1.3 Papel do cão na epidemiologia da leishmaniose.....	16
1.4 Abrigo de animais .....	17
1.5 Leishmaniose em cães de abrigo e seu impacto na saúde pública.....	18
2. OBJETIVOS.....	20
2.1 Objetivo geral.....	20
2.2 Objetivos específicos .....	20
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	21
3.1 Tipo de estudo.....	21
3.2 Cenário do estudo .....	21
3.3 População e coleta de dados .....	21
3.3.1 Avaliação clínica e coleta de amostra biológica .....	22
3.3.2 Teste sorológico para Leishmania.....	22
3.3.3 Análise hematológica e bioquímica .....	23
3.4 Análise dos dados .....	23
3.5 Aspectos éticos.....	24
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	25
5. CONCLUSÃO .....	38
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	39
7. ARTIGO.....	44

## 1. INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma zoonose causada por protozoários intracelulares obrigatórios pertencentes ao gênero *Leishmania*, sendo estes transmitidos entre os hospedeiros por fêmeas infectadas de flebotomíneos (ROMBOLA; BARLOZZARI; CARVELLI; SCARPULLA *et al.*, 2021). Nas Américas a *Leishmania infantum* é a espécie mais comumente envolvida na transmissão, bem como o vetor da espécie *Lutzomyia longipalpis*, sendo o cão o principal reservatório (BRASIL, 2021).

No mundo 75 países são endêmicos para Leishmaniose Visceral (LV) e, em 2017, 95% dos novos casos foram relatados em sete países, dentre eles o Brasil (WHO, 2020). A leishmaniose é a segunda afecção com o maior número de pessoas afetadas em todo o mundo, somente atrás da malária, sendo estimada uma incidência que incluem 12 milhões de pessoas, dentre casos viscerais (LV) e cutâneos (LC) (DE MASSIS; IPPOLITI; SIMONA; TITTARELLI *et al.*, 2020). A maioria dos casos de LV estão concentrados no Brasil, África Oriental e Índia, com 50.000 a 90.000 novos casos anualmente. Esse número pode ser ainda maior, já que a notificação da doença não é obrigatória em todos os países, resultando em uma subestimação da sua incidência (DA SILVA; SILVA; AGUIAR; NASCIMENTO *et al.*, 2024).

Em 2019, o país registrou 2.529 novos casos da doença, resultando em uma taxa de incidência de 1,2 casos por 100.000 habitantes e uma taxa de letalidade de 9% nesse mesmo ano (BRASIL, 2021). Atualmente, todos os estados do Brasil apresentam casos de leishmaniose visceral (DA SILVA; SILVA; AGUIAR; NASCIMENTO *et al.*, 2024).

Dentre os anos de 2010 e 2019, dos 36.432 casos notificados no país, 54,37%, ocorreram na região nordeste, concentrando o maior número de casos. Já a região Centro-Oeste foi responsável por 2.960, equivalente a 8,13% dos casos, dentre os quais 318 ocorreram no estado de Mato Grosso, com o maior número registrado em 2010, sendo de 55 (RIBEIRO; ALESSIO JUNIOR; ALESSIO, 2022).

A LV é uma enfermidade fatal em mais de 95% dos casos quando não tratados. Além disso, está relacionada a fatores como desnutrição, habitação precária, sistema imunológico debilitado, mobilidade populacional, alterações ambientais e climáticas, além da falta de recursos financeiros. Por esses motivos, a LV é classificada como uma doença tropical negligenciada (WHO, 2020).

As doenças tropicais negligenciadas (DTNs) compreendem um grupo de doenças com características em comum, de predominarem em condições climáticas tropicais e subtropicais

e estarem associadas a populações que se encontram abaixo da linha da pobreza. Ocorrem em decorrência de más condições sanitárias e proximidade a animais e vetores de doenças infecciosas (MEURER; COIMBRA, 2022).

De acordo com o Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (UNEP) e o Instituto Internacional de Pesquisa Pecuária - ILRI (2020), a ocorrência da leishmaniose está ainda ligada a fatores relacionados a mudanças ambientais, como desmatamento, construção de barragens, sistemas de irrigação e urbanização crescente. Sendo que aproximadamente 700.000 a 1 milhão de novos casos ocorrem anualmente.

É conhecida a correlação espacial entre casos humanos e elevada soroprevalência canina. Normalmente, os casos caninos surgem antes dos casos humanos, indicando que a infecção em cães pode servir como um importante indicador da transmissão da doença. (ALMEIDA; PEREIRA JUNIOR; PAULO; PINTO *et al.*, 2021). É relatado que em área rural, a proximidade do cão soropositivo aumenta em cinco vezes a chance de infecção humana (CAN; DOSKAYA; OZDEMIR; SAHAR *et al.*, 2016). Essa dependência espacial de cães soropositivos para *Leishmania*, como precedente de casos humanos também foi demonstrada no estado de São Paulo, no Brasil e na Argentina, em áreas que anteriormente eram não endêmicas para LV humana e se tornaram endêmicas (DA SILVA; SILVA; AGUIAR; NASCIMENTO *et al.*, 2024).

Estudos realizados quanto a distribuição da enfermidade, preveem a sua expansão no estado de Mato Grosso. No ano de 2015 a Secretaria de Estado de Saúde de Mato Grosso, descreveu a ocorrência de LV em diversos municípios, porém ainda sem haver registro para o município de Sinop (THIES, 2017). Já em um estudo realizado com o objetivo de traçar o perfil epidemiológico da leishmaniose visceral humana no estado do Mato Grosso, dentre os anos de 2010 e 2020, foram confirmados 318 casos da doença no estado, sendo dois casos residentes no município de Sinop-MT (RIBEIRO; ALESSIO JUNIOR; ALESSIO, 2022).

No que tange a presença do vetor, já foram descritas oito espécies de flebotomíneos de importância médica para leishmanioses no município de Sinop-MT, encontradas em todos os ecótopos e em todos os meses do ano, o que demonstra o risco de exposição para a população do município (THIES, 2017).

A urbanização da LV apresenta um desafio significativo para a saúde pública no Brasil. Esse fenômeno é atribuído à ocupação desordenada do espaço geográfico, à adaptação das espécies vetores ao ambiente doméstico e à presença de animais que atuam como reservatórios (CARVALHO; LUZ; RODRIGUES; DIAS *et al.*, 2019).

Associado a estes fatores, o crescimento desordenado das áreas urbanas tem ainda ocasionado além de impactos demográficos, alteração na configuração da população de animais de estimação, muitas vezes resultando no abandono de cães e gatos, ficando estes expostos a uma infinidade de patógenos, através do contato com seus vetores. Para tal, com o objetivo de fornecer cuidados básicos de saúde, alimentação e higiene aos animais abandonados, existem no país diversos abrigos de cães e gatos (DA SILVA; SILVA; AGUIAR; NASCIMENTO *et al.*, 2024). Entretanto, os abrigos de animais são considerados relevantes para a saúde pública, pois podem atuar como locais de transmissão de doenças infecciosas (ESTEVAM; VELOSO; SILVA; MORI *et al.*, 2022).

O Brasil conta com aproximadamente 55 milhões de cães e 24 milhões de gatos, números que podem alcançar 100 milhões até 2030. A ausência de controle populacional leva ao abandono, maus-tratos e à propagação de doenças. Aproximadamente 185.000 cães abandonados estão sob os cuidados de organizações não governamentais e grupos de proteção animal. Esses animais representam potenciais reservatórios de *Leishmania*, o que agrava o desafio do controle da leishmaniose canina no Brasil, especialmente considerando a presença de vetores flebotomíneos nas proximidades de abrigos (DA SILVA; SILVA; AGUIAR; NASCIMENTO *et al.*, 2024).

Tendo em vista a relevância dos abrigos na transmissão de doenças infectocontagiosas, o impacto da LV na saúde pública e a ocorrência de casos em animais e humanos nos últimos anos, faz-se necessária a determinação do perfil sorológico para LV canina em animais de abrigo no estado de Mato Grosso, como precedente de casos humanos. A cidade de Sinop, localizada no norte de Mato Grosso, tem observado uma expansão preocupante dos casos de Leishmaniose Visceral Canina (LVC) nos últimos anos, tanto no município quanto nas cidades vizinhas. Diante desse cenário, é essencial reforçar as medidas de vigilância epidemiológica para controlar e prevenir a propagação da doença. O presente estudo objetivou realizar o rastreio de cães de abrigo positivos para LVC e determinar seu perfil clínico-epidemiológico, visando contribuir para o aprimoramento das medidas de controle e prevenção pela vigilância epidemiológica da Leishmaniose Visceral, bem como impedir a da expansão da doença.

## 1.1 Leishmaniose visceral canina

A leishmaniose visceral ocorre devido a invasão de protozoários do gênero *Leishmania* ao sistema fagocítico mononuclear de hospedeiros mamíferos, como os cães, causando a leishmaniose visceral canina. Essa invasão ocorre principalmente durante períodos de hematofagia do vetor, flebotomíneos fêmeas pertencentes aos gêneros *Lutzomyia* (RIBEIRO; MICHALICK; DA SILVA; DOS SANTOS *et al.*, 2018).

Na América do Sul, a leishmaniose visceral canina (LVC) pode ser causada por diferentes espécies de *Leishmania*, sendo *Leishmania infantum* e *Leishmania braziliensis* as mais comuns e amplamente distribuídas. A infecção por *L. infantum* geralmente segue um curso mais crônico, podendo levar o animal ao óbito, mesmo com tratamento (BRASILEISH, 2018).

As leishmanias são consideradas parasitas intracelulares obrigatórias das células do sistema fagocítico mononuclear, como os macrófagos. São protozoários pleomórficos, encontrados de duas formas, sendo promastigota no tubo digestivo do vetor e amastigota nos tecidos dos vertebrados (DA SILVA; SILVA; CAMPOS, 2021).

O seu principal vetor, *Lutzomyia longipalpis* está presente em locais úmidos, de baixa luminosidade e rico em matéria orgânica, sendo que as fêmeas se alimentam no período crepuscular e noturno (FREITAS, 2022). São encontrados principalmente em regiões periurbanas e áreas de transição entre meio urbano e silvestre, como florestas preservadas (KMETIUK; DE CAMPOS; BACH; BRANDAO *et al.*, 2021).

A relação existente entre a distribuição do vetor e as condições ambientais evidenciam a complexidade da leishmaniose e a necessidade de estratégias integradas para o seu controle. Dito isto, é relevante ressaltar que a abordagem one health (saúde única) é essencial, considerando a interação entre humanos, reservatórios animais e vetores, em paralelo as condições ambientais, sociais e econômicas que influenciam a dinâmica da doença (MEURER; COIMBRA, 2022).

Os cães são os principais reservatórios do parasito em áreas urbanas e, por viverem próximos aos humanos, o controle efetivo da LVC é de extrema importância para a prevenção da leishmaniose visceral humana (ESTEVAM; VELOSO; SILVA; MORI *et al.*, 2022).

A maioria dos animais infectados pelo parasito apresentam uma infecção subclínica, que pode ser controlada espontaneamente. No entanto, essa infecção pode evoluir para a forma clínica devido a fatores como imunossupressão e infecções adicionais, que afetam a resposta imune. Se a resposta imune for mediada por células Th1, pode haver proteção eficaz contra a

Leishmania, através do estímulo à produção de citocinas indutoras de atividade anti-Leishmania pelos macrófagos. Em contrapartida, uma resposta mediada por células Th2 induz a produção de citocinas que estimulam linfócitos B com resposta humoral produtora de anticorpos anti-Leishmania, que não protegem contra a infecção (BASILEISH, 2018).

A partir do contato com o protozoário, os cães irão apresentar a resposta imunológica envolvendo linfócitos T CD4, células inflamatórias, como gama-interferon, IL-2 e TNF-alfa, responsáveis pela atividade anti-Leishmania supracitada. Toda via, quando em conjunto apresentam a resposta humoral há a ocorrência dos sinais clínicos, pela deposição de complexos imunes associados a resposta humoral intensa e alta carga parasitária (DA SILVA, 2023).

As manifestações clínicas da LVC podem ser sistêmicas, uma vez que é uma doença crônica e generalizada, afetando qualquer órgão, tecido ou fluido orgânico (SOLANO-GALLEGO; MIRO; KOUTINAS; CARDOSO *et al.*, 2011). Os sintomas incluem linfadenopatia generalizada, emagrecimento, alterações no apetite, letargia, palidez de mucosas, esplenomegalia, poliúria, polidipsia, febre, vômito e diarreia. Manifestações cutâneas incluem dermatite esfoliativa, alopecia, dermatite ulcerativa ou nodular e onicogribose. Além disso, podem ocorrer complicações oculares, lesões mucocutâneas, vasculopatias e neuropatias (SOLANO-GALLEGO; MIRO; KOUTINAS; CARDOSO *et al.*, 2011).

No Brasil, através da Nota Técnica Conjunta n° 001/2016 MAPA/MS, foi autorizado o registro do produto MILTEFORAN®, princípio ativo miltefosina, para o tratamento da leishmaniose visceral de cães, sendo o tratamento proibido com produtos de uso humano ou não registrados no MAPA. Além disso, destaca-se a importância de reavaliações clínicas, laboratoriais e parasitológicas periódicas pelo médico veterinário, a necessidade de um novo ciclo de tratamento quando indicado e o uso de produtos repelentes contra flebotômíneos (MAPA, 2016).

Como métodos de prevenção da LVC são implementados o tratamento de cães infectados, o que pode reduzir o número de reservatórios, e a proteção direta dos cães, pela utilização de produtos spot-on ou coleiras impregnadas com inseticida, contra o vetor (DE MASSIS; IPPOLITI; SIMONA; TITTARELLI *et al.*, 2020).

Em 2020 foi determinada como uma medida de controle pela vigilância de leishmaniose visceral, a aquisição de 1.009.036 coleiras impregnadas com deltametrina a 4%, para o uso em cães, as quais seriam disponibilizadas aos municípios prioritários. É uma meta da vigilância reduzir a taxa de letalidade e de transmissão da doença, bem como a prevenção de incidência em estados com transmissão esporádica (BRASIL, 2021).

## 1.2 Diagnóstico da leishmaniose visceral canina

Os testes recomendados pelo Ministério da Saúde do Brasil para detectar LVC são o ensaio Dual-Path Platform<sup>®</sup> (DPP) para triagem e o ensaio imunoenzimático (ELISA) para confirmação. Análises moleculares, como a reação em cadeia da polimerase (PCR), podem ser utilizadas em conjunto com o diagnóstico sorológico para identificar as espécies de *Leishmania* responsáveis pela infecção. O diagnóstico específico é essencial, pois *L. braziliensis* e *L. amazonensis*, agentes etiológicos mais comuns da leishmaniose tegumentar americana (LTA) em humanos, também já foram identificados em cães infectados (ESTEVAM; VELOSO; SILVA; MORI *et al.*, 2022).

O BRASILEISH (2018) propõe um fluxograma para o diagnóstico da LVC, que inclui sorologia qualitativa, utilizando testes rápidos de imunocromatografia para triagem, seguida de sorologia quantitativa. Em casos de altos títulos de anticorpos anti-*Leishmania* associados à presença de sinais clínicos e/ou alterações laboratoriais, confirma-se a LVC como um caso de infecção ativa. Na ausência de sinais clínicos e/ou alterações laboratoriais, o animal é considerado infectado, mas assintomático. Se a sorologia quantitativa for negativa, mas houver forte suspeita de LVC, recomenda-se a utilização de outros métodos diagnósticos, como citologia, histologia, cultura e/ou PCR.

O método de diagnóstico molecular tem demonstrado, em diversos estudos, maior homogeneidade e consistência na detecção em amostras de cães em diferentes estágios da infecção. Além disso, oferece alta sensibilidade na detecção do DNA do parasito. Em um estudo comparativo entre PCR e ELISA, a metodologia molecular mostrou-se superior em termos de sensibilidade, especificidade e homogeneidade no diagnóstico de cães em diferentes estágios da infecção, tanto sintomáticos quanto assintomáticos (DE CARVALHO; RIBOLDI; BELLO; RAMOS *et al.*, 2018). A PCR em tempo real já demonstrou ser capaz de detectar DNA de *Leishmania* em cães assintomáticos que obtiveram resultados negativos nos testes sorológicos recomendados pelo protocolo oficial brasileiro para LVC. Portanto, o método molecular é fundamental para a confirmação do diagnóstico de LVC, especialmente em animais assintomáticos provenientes de regiões não endêmicas (DE CARVALHO; RIBOLDI; BELLO; RAMOS *et al.*, 2018).

A detecção do DNA de *Leishmania* por PCR acelerou o diagnóstico e tem sido amplamente utilizada para identificar espécies e sua distribuição geográfica, aprimorando a vigilância da doença. A PCR quantitativa (qPCR) é considerada o padrão-ouro para quantificar a carga parasitária em diferentes tecidos de cães infectados, independentemente de apresentarem manifestações clínicas. Esse método pode ser empregado tanto no diagnóstico quanto no monitoramento das infecções durante o tratamento. Todavia, embora o Brasil esteja se destacando em relação ao manejo diagnóstico e terapêutico da leishmaniose visceral em humanos, já em cães, o diagnóstico sorológico duplo ainda é recomendado pelo Ministério da Saúde (DA SILVA; SILVA; AGUIAR; NASCIMENTO *et al.*, 2024).

### 1.3 Papel do cão na epidemiologia da leishmaniose

Os cães (*Canis familiaris*) são reconhecidos como os principais reservatórios domésticos da leishmaniose visceral no Brasil (CARVALHO; LUZ; RODRIGUES; DIAS *et al.*, 2019). A presença e a dinâmica dos reservatórios são essenciais para a manutenção e propagação do ciclo de transmissão da LV. Estes reservatórios podem ser classificados como silvestres e domésticos, responsáveis por manter o ciclo do parasita e facilitar sua transmissão aos humanos. O cão doméstico, em particular, desempenha um papel fundamental na disseminação da LV (BRACARENSE; MESQUITA; ANTUNES; OLIVEIRA *et al.*, 2024), embora um número crescente de outros hospedeiros mamíferos, incluindo humanos infectados, possa atuar como reservatório eficaz ao infectar vetores flebotomíneos, os cães permanecem como uma fonte indireta crucial em muitos contextos onde o ciclo de transmissão de *L. infantum* ocorre (DANTAS-TORRES; MIRO; BANETH; BOURDEAU *et al.*, 2019).

A ocorrência da LVC é impulsionada por condições ambientais e epidemiológicas favoráveis, que facilitam o contato entre os flebotomíneos infectados e os hospedeiros vertebrados, havendo a conclusão do ciclo biológico da *Leishmania* spp. (DE MASSIS; IPPOLITI; SIMONA; TITTARELLI *et al.*, 2020).

Diversos estudos epidemiológicos e moleculares indicam uma alta prevalência de infecção por *Leishmania infantum* em populações caninas, tornando esses animais os principais responsáveis pela manutenção e disseminação do parasita em áreas urbanas. Fatores como o contato com os cães, a estrutura dos grandes centros urbanos e a ineficácia ou ausência de

políticas públicas contribuem para essa realidade (BRACARENSE; MESQUITA; ANTUNES; OLIVEIRA *et al.*, 2024).

Estudos sobre fatores associados à infecção por *Leishmania* spp. em cães mostram que a infecção está intimamente ligada a questões ambientais e socioeconômicas. Há uma forte correlação entre classes sociais menos favorecidas e a ocorrência da infecção, destacando a relação entre pobreza e LV. Por isso, é crucial priorizar medidas integradas que enfoquem a gestão ambiental, a melhoria da infraestrutura urbana, a qualidade de vida, a educação em saúde e a participação popular (CARVALHO; LUZ; RODRIGUES; DIAS *et al.*, 2019).

A eutanásia de cães soropositivos é um dos pilares centrais do Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (VLCP), implementado pelo Ministério da Saúde no Brasil (CARVALHO; LUZ; RODRIGUES; DIAS *et al.*, 2019). O VLCP foi estabelecido para conter a disseminação da doença por meio do diagnóstico e tratamento de casos humanos, redução da população de flebotomíneos e controle de cães infectados. Sendo que a eficácia dessas ações depende da vigilância sanitária municipal, que deve abranger a identificação das áreas de transmissão, a avaliação da distribuição vetorial, o atendimento médico adequado e o monitoramento dos cães (MENEGATTI; DIAS, 2024).

É válido ressaltar que a eficácia da eutanásia como medida de controle é contestada, devido a fatores como alto custo operacional, baixa aceitação popular, rápida reposição dos animais sacrificados, movimentação de cães infectados, atrasos entre a detecção e eliminação dos animais e o desempenho questionável dos métodos diagnósticos empregados (CARVALHO; LUZ; RODRIGUES; DIAS *et al.*, 2019).

#### **1.4 Abrigo de animais**

Abrigos são locais destinados a acolher diversos animais, com o objetivo de proteger tanto os próprios animais quanto os espaços públicos de potenciais riscos epidemiológicos. Esses abrigos podem ser de caráter público, privado ou misto. Segundo as Diretrizes da Associação de Veterinários de Abrigos para padrões de atendimento, os serviços prestados devem ser adequados à capacidade do abrigo de oferecer cuidados que garantam a satisfação de todas as necessidades dos animais, independentemente de seu estado de saúde, assegurando-lhes uma boa qualidade de vida durante sua permanência no local (DA SILVA, 2023).

Nesse contexto, a implementação de políticas públicas eficazes para o manejo populacional de cães e gatos são fundamentais para prevenir o abandono e controlar a superpopulação de animais em situação de rua (GALDIOLI; ROCHA; GARCIA, 2022) e conseqüentemente, nos abrigos.

No Brasil, os abrigos surgiram como uma tentativa de oferecer cuidados básicos temporários para estes animais errantes. No entanto, muitos abrigos acabam funcionando como lares permanentes para esses animais. Esses espaços devem ser temporários e devem aplicar os quatro "R": resgate seletivo, recuperação, ressocialização e reintrodução na sociedade (DA SILVA, 2023).

Ainda, a adoção de boas práticas na gestão dos abrigos, como a realização de triagens clínicas durante a admissão, manutenção de áreas de quarentena e isolamento, e a aplicação de protocolos de vacinação e controle de endo e ectoparasitas, são medidas essenciais para garantir a saúde e o bem-estar dos animais abrigados. Essas ações melhoram a qualidade de vida dos animais e reduzem os riscos de zoonoses, promovendo melhor interação entre humanos e animais (GALDIOLI; ROCHA; GARCIA, 2022).

### **1.5 Leishmaniose em cães de abrigo e seu impacto na saúde pública**

A falta de controle populacional resulta em abandono, mesmo o abandono de animais sendo considerado crime no Brasil. Favorecendo os maus-tratos, disseminação de doenças e impactos ambientais negativos, representando um desafio para o controle de doenças infecciosas, como a leishmaniose visceral canina (DA SILVA; SILVA; AGUIAR; NASCIMENTO *et al.*, 2024).

Um dos critérios essenciais para um abrigo de animais é a capacidade de prevenir e controlar doenças infectocontagiosas. Todos os animais que chegam ao abrigo devem ser vacinados, mantidos em quarentena se necessário, e isolados e tratados caso apresentem doenças contagiosas. Em ambientes com alta densidade populacional, o impacto de doenças infectocontagiosas é intensificado por fatores como o ambiente, a imunidade dos animais e as características epidemiológicas individuais (DA SILVA, 2023).

O acolhimento contínuo de cães resgatados em abrigos merece atenção especial, pois muitas vezes resulta em ambientes superlotados. Isso ocorre porque a maioria dos cães resgatados não é adequada para adoção, e a aglomeração em espaços confinados pode favorecer

a disseminação de patógenos e vetores. Em áreas endêmicas para LVC, os abrigos podem se tornar focos de parasitas, colocando em risco os animais residentes, cães vizinhos e até mesmo seres humanos, especialmente crianças e idosos (ESTEVAM; VELOSO; SILVA; MORI *et al.*, 2022).

Estudos sobre a saúde animal em abrigos é limitada, e pouco se sabe sobre a prevalência de LVC ou das espécies de parasitas presentes nesses ambientes, criando um problema de saúde pública. Portanto, o número de animais acomodados em abrigos deve ser compatível com os recursos disponíveis e o número de cuidadores responsáveis (RODRIGUES, 2019).

O manejo de cães e gatos em áreas comuns requer estratégias específicas para prevenir doenças e manter o bem-estar animal. Devido ao fato de serem populações oscilantes, transitórias e de origem desconhecida, a gestão desses animais apresenta desafios adicionais para gestores, funcionários e médicos veterinários (DA SILVA, 2023).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Este estudo tem como objetivo determinar a ocorrência o agente etiológico *Leishmania infantum* em cães de abrigo na região Norte de Mato Grosso, através da realização de inquéritos soroepidemiológicos e análises clínico-epidemiológicas de casos positivos.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Coletar amostras biológicas de cães de abrigo para a detecção do agente etiológico.
- Realizar os exames sorológicos DPP® e ELISA, para detecção de anticorpos contra *Leishmania infantum*.
- Analisar a prevalência da Leishmaniose Visceral entre os cães de abrigo na região do estudo.
- Investigar fatores clínicos e epidemiológicos associados à infecção por *Leishmania infantum*.
- Divulgação dos resultados para profissionais de saúde pública e gestores de abrigos, estimulando a promoção de ações de saúde pública direcionadas, atuando na medicina preventiva.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Tipo de estudo**

Trata-se de um estudo epidemiológico descritivo, isto é, de prevalência, transversal e de caráter quantitativo e qualitativo que foi desenvolvido em um abrigo de animais na região Norte do Mato Grosso. Os estudos transversais têm por objetivo obter dados fidedignos que ao final da pesquisa permitam elaborar conclusões confiáveis, além de gerar novas hipóteses que poderão ser investigadas a partir de demais pesquisas (ZANGIROLAMI-RAIMUNDO; ECHEIMBERG; LEONE, 2018).

#### **3.2 Cenário do estudo**

O abrigo de animais escolhido para o estudo, a Associação Protetora dos Animais do município de Sinop (Apams), está situado no município de Sinop, ao Norte do estado de Mato Grosso, no Brasil (11°50'53" Sul e longitude de 55°38'57" Oeste). De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2023) a população residente em Sinop é de 196.312 pessoas em uma área territorial de 3.990,870 km<sup>2</sup>. O local em questão foi selecionado pela ocorrência de casos em cães anualmente, no município em que está inserido, apresentando no ano de 2021 um total de 12,82% de amostras reagentes, como resultado de inquéritos espontâneos para LVC no período de janeiro de 2019 a dezembro de 2021 (MENEGATTI; DIAS, 2024).

A APAMS, é uma associação sem fins lucrativos fundada em 29 de agosto de 2005, dedica-se à proteção e ao bem-estar de animais vítimas de maus-tratos e abandono. Seu principal objetivo é resgatar animais das ruas, tratá-los, castrá-los e reintegrá-los à sociedade por meio da adoção.

#### **3.3 População e coleta de dados**

Este estudo incluiu um total de 200 cães, entre animais residentes e aqueles atendidos pelo serviço médico veterinário do abrigo, provenientes de resgates. Todos os cães passaram

por avaliação clínica e coleta de amostras biológicas, com autorização prévia da direção do abrigo. A amostragem abrangeu tanto cães sintomáticos quanto assintomáticos que chegaram ao abrigo, com as coletas realizadas entre fevereiro e agosto de 2024.

### *3.3.1 Avaliação clínica e coleta de amostra biológica*

Todos os cães foram submetidos a uma avaliação clínica, incluindo exame físico, informações sobre sexo, estimativa de idade e coleta de dados sobre a presença de sintomas clássicos de LVC, como: lesões cutâneas, alterações neurológicas, baixo escore corporal, onicogribose, dermatopatia, secreção ocular, dificuldades visuais, conjuntivite, secreção nasal, dentre outras. No exame físico geral foram observadas: coloração de mucosas, tempo de preenchimento capilar, temperatura corporal, hidratação, palpação de linfonodos e ocorrência de rinorreia, otorreia, oftalmorreia, sialorreia, tosse, espirros, alterações neurológicas e de deambulação, dor e/ou desconforto abdominal e fertilidade.

Amostras de sangue de aproximadamente 3 a 5 ml foram colhidas através de punção venosa jugular ou cefálica, de acordo com o peso do animal, mediante contenção por colaborador, quando necessário utilizando de dispositivos específicos de proteção, como focinheira. Após, as amostras foram armazenadas em tubos contendo ativador de coágulo, submetidas a centrifugação a 4.000 rpm e separação do soro pipetado em tubo estéril.

### *3.3.2 Teste sorológico para Leishmania*

Os participantes do estudo foram submetidos à triagem pelo teste imunocromatográfico de plataforma dupla (teste rápido DPP; Bio-Manguinhos/Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil) a fim de determinar a presença de anticorpos contra *Leishmania* spp.

Resultados positivos foram confirmados através do ensaio imunoenzimático (EIA) para LVC (EIE-LVC; Bio-Manguinhos/Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil), realizado pelo Laboratório Central de Saúde Pública de Mato Grosso (LACEN-MT), interpretados como reagentes ou não reagentes, sendo estes os métodos diagnósticos determinados em consonância com o estabelecido pelo Ministério da Saúde através da Nota Técnica conjunta nº 01/2011 para

o diagnóstico de LVC (BRASIL, 2011). Por fim, foi realizada a comparação estatística do resultado de ambos os testes sorológicos utilizados.

### *3.3.3 Análise hematológica e bioquímica*

As amostras de sangue total dos animais reagentes foram submetidas a análises hematológicas e bioquímicas, sendo hemograma, com avaliação de hemácias, leucócitos e plaquetas, através do analisador hematológico Sysmex pocH-100iV Diff® (Sysmex Corporation, Wakinoama-Kaigandori, Chu-ku, Japan); e a avaliação bioquímica compreendeu a dosagem de alanina aminotransferase (ALT) e creatinina, através do analisador bioquímico BIO - 200® (BIOPLUS, Barueri, São Paulo, Brasil). Ambos realizados de acordo com instruções do fabricante, adotando valores de referência da APAMS.

## **3.4 Análise dos dados**

A estatística descritiva foi aplicada para resumir os dados por meio da construção de tabelas de frequência para as variáveis categóricas. Para facilitar a comparação das taxas de soropositividade e a concordância entre os métodos diagnósticos, os dados do abrigo foram analisados utilizando o teste exato de Fisher. Além disso, o teste  $\chi^2$  de Pearson foi empregado para verificar a associação entre variáveis categóricas e a ocorrência de LVC. Em todos os testes, o nível de significância estatística foi fixado em 95%. Os dados foram organizados em planilhas do software Microsoft Office Excel 365® e, em seguida, importados e analisados no software GraphPad Prism 8® a fim de encontrar resultados fidedignos, que foram apresentados de forma descritiva e através de gráficos.

Dessa forma, foram coletados dados acerca das seguintes variáveis: número de casos positivos e negativos de Leishmaniose Visceral Canina nos testes DPP® e EIA; perfil clínico epidemiológico (esterilização, protocolo vacinal, raça, pelagem, coinfeções, idade, sintomas e sexo) de casos positivos para Leishmaniose Visceral Canina no teste DPP®; alterações hematológicas (anemia, trombocitopenia, leucopenia, leucocitose, neutropenia, neutrofilia, eosinofilia, basofilia, monocitopenia, monocitose, linfopenia, hiperproteinemia, aumento de

ALT e aumento de creatinina) de casos positivos para Leishmaniose Visceral Canina no teste DPP®.

Os critérios de inclusão dos animais do abrigo foram: qualquer cão, independentemente da raça, idade ou estado clínico já pertencente ao abrigo ou que deu entrada a partir de um resgate, não tendo um responsável legal, além do abrigo. Como critérios de exclusão, as amostras não foram coletadas de cães aos quais não foi possível realizar a contenção física ou química, colocando em risco a sua integridade e dos colaboradores envolvidos.

### **3.5 Aspectos éticos**

Este estudo foi aprovado pela Comissão Ética de Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT) sob o número do Parecer: 23108.022539/2023-11 com autorização para o uso de animais nesta pesquisa e ainda no Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), com autorização de pesquisa com finalidade científica em unidade de conservação Federal; ambos em consonância com todos os dispositivos legais. Ainda, foi concedida a autorização para o desenvolvimento da pesquisa, dos responsáveis pelo abrigo e do proprietário da propriedade privada onde o abrigo está localizado, através do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um total de 200 animais foi testado, incluindo residentes do abrigo, cães resgatados em resposta a denúncias de maus-tratos ou pedidos de ajuda devido a condições precárias de saúde. No teste de triagem para leishmaniose visceral canina, utilizando o teste imunocromatográfico de plataforma dupla (teste rápido DPP; Bio-Manguinhos/Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil), 26 animais apresentaram resultado positivo, enquanto 174 tiveram resultado negativo, correspondendo a 13% e 87%, respectivamente.

Em estudo de frequência de anticorpos anti *L. infantum* por meio do Teste Rápido DPP® em 201 cães, no município de Sinop-MT, observou-se sete animais (3,48%) positivos e 194 (96,52%) negativos (LOPES; BONFIM; SANTI; BERNDT *et al.*, 2020). Apresentando divergência significativa para o estudo em questão, apesar de ambos serem desenvolvidos no mesmo município. Tal fato pode ser explicado pelo estudo em questão atuar apenas em animais de abrigo. Uma vez que deve ser considerada a presença de vetores flebotomíneos capazes de transmitir *Leishmania* nas proximidades de abrigos, favorecendo a disseminação de doenças (DA SILVA; SILVA; AGUIAR; NASCIMENTO *et al.*, 2024). Além da atuação do abrigo no resgate de animais, muitas vezes já em condições adversas de saúde, com o sistema imune debilitado, sujeitos anteriormente a diversas doenças infectocontagiosas, como a leishmaniose visceral canina.

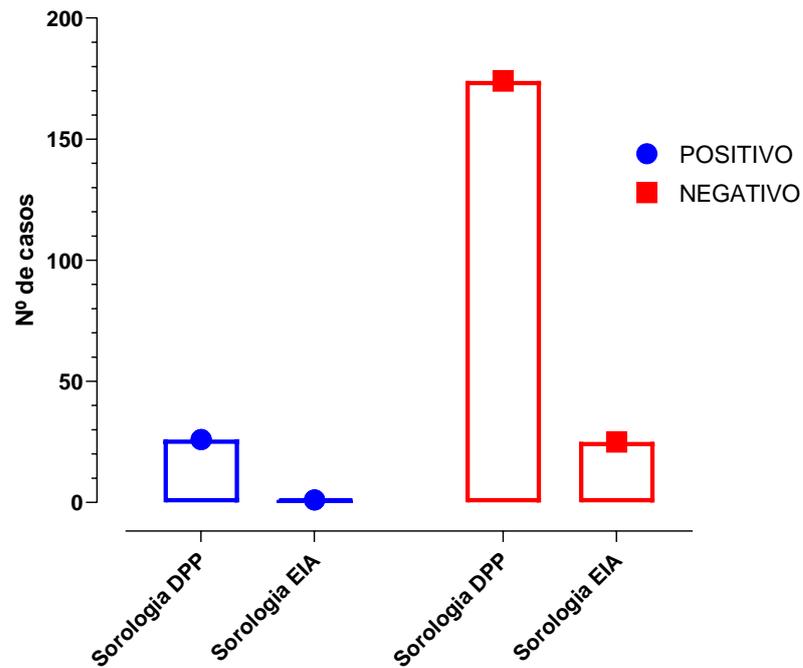
No município de Sinop-MT é descrita a ocorrência do vetor flebotomíneo, sendo oito espécies de importância médica, principalmente em áreas de preservação permanente; também em bairros com fragmentos florestais (THIES; BRONZONI; ESPINOSA; SOUZA *et al.*, 2016), sendo essa uma característica do local em que o abrigo em questão está inserido, o que pode estar atrelado a elevada soroprevalência encontrada (13%). Além disso, é sabido que o flebotomíneo *Lutzomyia antunesi*, associado à leishmaniose tegumentar americana e à leishmaniose visceral, já foi observado em todos os ecótopos ao longo do ano no mesmo município (THIES; BRONZONI; ESPINOSA; SOUZA *et al.*, 2016).

Foi relatada uma positividade de 43% para *L. infantum* em um abrigo localizado no estado do Rio Grande do Norte, Brasil, onde 98 animais foram testados para a enfermidade, utilizando do método de diagnóstico sorológico ELISA (DA SILVA; SILVA; AGUIAR; NASCIMENTO *et al.*, 2024). Já em um abrigo no município de Lavras, Minas Gerais, Brasil, foram testados 324 animais e encontrada uma prevalência de 5,56% através do método diagnóstico molecular, o PCR (SIRIAS, 2021). Enquanto em abrigos do Estado de Sergipe,

144 animais foram testados através do TR DPP® e encontrada a soroprevalência de 49,30% (SOARES; DE JESUS; OLIVEIRA; BARATA *et al.*, 2024). A prevalência encontrada nesse estudo difere dos demais, sendo influenciada por questões referente a região estudada, logo, sofre variação de acordo com o local, distribuição do vetor e agente etiológico e ainda pelo método de diagnóstico empregado em cada estudo.

As capitais dos estados supracitados obtiveram classificação de risco intenso para Leishmaniose Visceral, sendo Sergipe e Rio Grande do Norte mais recentemente, no período de 2018 – 2020 e Minas Gerais, de 2013 – 2015. Enquanto na região Centro-Oeste, somente foram classificados como risco muito intenso os municípios de Rio Verde de Mato Grosso (MS), de 2016-2018 e Campo Grande (MS), de 2016-2018 e 2018-2020 (NINA; CALDAS; SOEIRO; FERREIRA *et al.*, 2023). No Brasil, grandes variações são observadas nos valores de soroprevalência de LVC, tendo sido encontrados valores variando desde 4 a 75% relacionado a condições geográficas, climáticas e aspectos sociais de cada região acometida (COSTA; BLANGIARDO; RODAS; NUNES *et al.*, 2018). Neste estudo os resultados encontrados se se enquadram dentro da variabilidade e estão dentro do esperado, apesar do município não ser considerado de risco, acredita-se que a soroprevalência encontrada seja devido a região possuir condições favoráveis para o desenvolvimento da doença, além do método diagnóstico empregado.

As amostras positivas (26) no TR DPP® para LVC foram encaminhadas ao Laboratório Central de Saúde pública de Mato Grosso (LACEN-MT) para a realização do teste sorológico EIA. Dentre os resultados obtidos pelo EIA, uma amostra apresentou resultado positivo e 25 resultados negativo, correspondendo a 3,84% e 96,15%, respectivamente. Realizando-se a comparação entre o resultado dos testes sorológicos utilizados, foi encontrado um valor de  $p=0,3299$ , desta forma aceitando-se a hipótese nula, de que não há diferença estatística entre os testes e que a diferença de resultados observada pode ser atribuída ao acaso, apesar de 26 amostras serem positivas no DPP® e somente uma positiva no EIA, conforme Figura 1.



**Figura 1.** Número de casos positivos e negativos de Leishmaniose Visceral Canina nos testes DPP e EIA;  $p=0,3299$ , teste exato de Fisher.

Em estudo de validação do teste DPP® para CVL (Bio-Manguinhos/Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil), foi observado em cães clinicamente saudáveis uma sensibilidade de 89% e especificidade de 70%, apresentando vantagens como rapidez, simplicidade e praticidade (FIGUEIREDO; VASCONCELOS; MADEIRA; MENEZES *et al.*, 2018). Devido vantagens apresentadas o teste em questão foi escolhido para uso neste estudo.

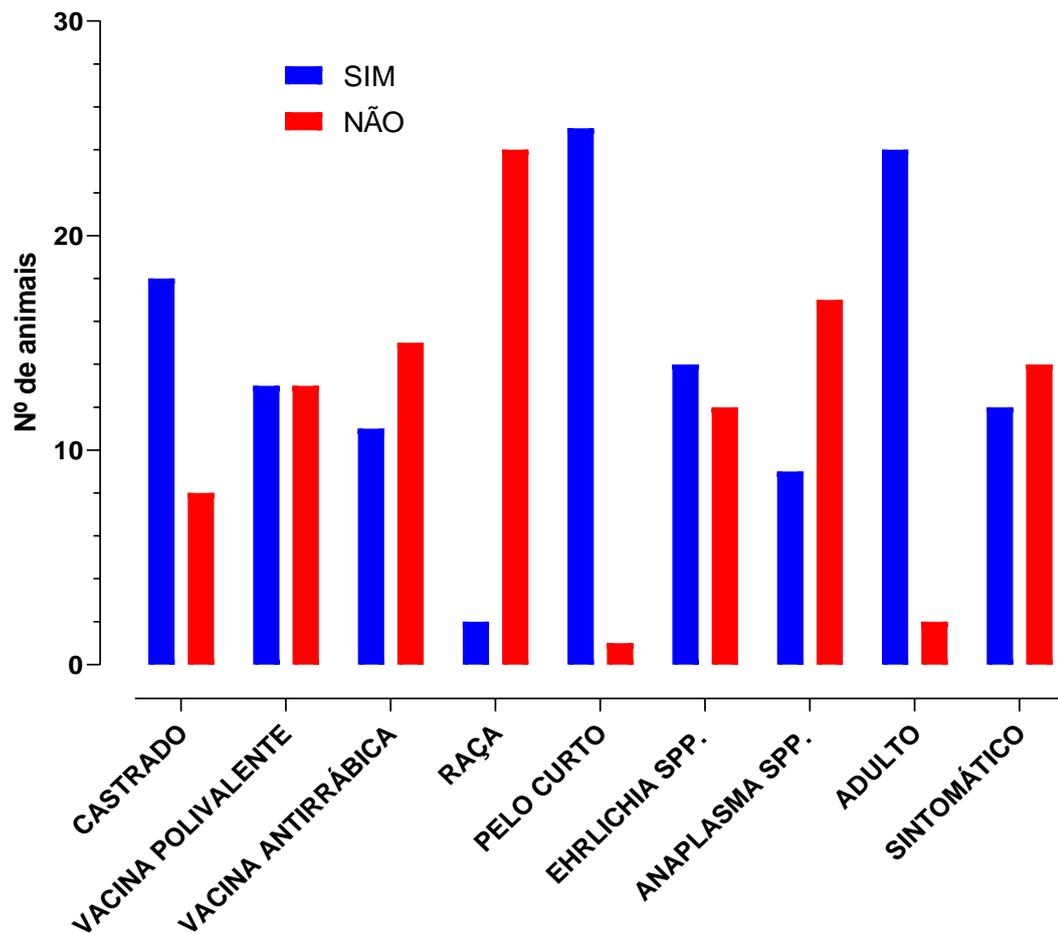
Os critérios oficiais para o diagnóstico de Leishmaniose Visceral Canina (LVC) no Brasil passaram a se basear na utilização da plataforma de teste imunocromatográfico de triagem DPP®, que emprega proteínas recombinantes específicas (rK26 e rK39). Este teste é seguido pelo ELISA indireto, que atua como teste confirmatório (BRASIL, 2011). Apesar de sua praticidade, o DPP® apresenta uma sensibilidade questionável para detectar animais assintomáticos. Contudo, é o teste de triagem recomendado pelo Ministério da Saúde, com confirmação subsequente (DA SILVA, 2023). Diante disso, a taxa de positividade encontrada neste estudo (13%), no teste DPP® pode se encontrar subestimada, uma vez que os animais considerados soronegativos eram principalmente assintomáticos.

Os testes sorológicos, como ELISA e RIFI, apresentam limitações, especialmente no que se refere à sensibilidade. Em cães assintomáticos e/ou em fase inicial de infecção, a resposta a esses exames é menos sensível devido ao baixo grau de parasitismo, resultando em níveis reduzidos de anticorpos anti-Leishmania (DE CARVALHO; RIBOLDI; BELLO; RAMOS *et al.*, 2018), não superando em 1,2 vezes o *Cut-off*. Sendo que neste estudo, dos 26 cães positivos no TR DPP®, 12 eram assintomáticos, ou seja, 46,15% e diversos animais sintomáticos apresentavam sintomas inespecíficos, tais fatos aliado a sensibilidade questionável podem explicar a elevada ocorrência de resultados negativos no EIA (25).

Um estudo realizado no município de Sinop-MT revelou uma positividade em 20 amostras na sorologia por DPP® (6,94%) e em 9 amostras pelo teste ELISA (3,13%). Quando analisadas por PCR de amostras de sangue, a positividade foi observada em 83 amostras (28,82%). No entanto, ao considerar a combinação de DPP® positivo com confirmação pelo ELISA positivo, conforme recomendado pelo Ministério da Saúde, apenas uma amostra resultou positiva, correspondendo a 0,35% (THIES, 2017). Tal fato se assemelha ao resultado obtido neste estudo, onde utilizando o protocolo do Ministério da saúde, apenas uma amostra foi positiva em ambos os testes DPP® e EIA (3,84%). Já foi descrita anteriormente uma subestimação da positividade proporcionada pelos testes sorológicos no município de desenvolvimento deste estudo, considerado silencioso para LV e LVC (THIES, 2017). Todavia, não foi possível a aplicação de testes moleculares neste estudo para realizar a comparação entre os métodos diagnósticos, ficando os resultados condicionados aos métodos sorológicos, levantando novos questionamentos a respeito dos métodos preconizados pelo Ministério da Saúde, com a hipótese de existência de resultados falsos negativos no teste confirmatório EIA ou ainda em ambos os testes.

Ainda segundo Thies (2017) os resultados de testes sorológicos que apresentem limitações de sensibilidade e especificidade podem interferir na confiabilidade dos resultados, fornecendo taxas de positividade equivocadas, impactando no conhecimento da gravidade da positividade da doença na região estudada. Apesar do ELISA permitir a detecção de baixos títulos de anticorpos, a técnica é pouco precisa na detecção de casos ainda subclínicos ou assintomáticos. Além disso, 5 a 10% dos cães infectados não desenvolvem níveis de anticorpos detectáveis ou podem ainda não terem realizado soroconversão, ocasionando subestimação da positividade. Tendo em vista a limitação descrita para o método sorológico utilizado como teste confirmatório (EIA), foram consideradas para as análises estatísticas clínico epidemiológica n=26 amostras positivas em pelo menos um teste, sendo este o TR DPP®.

Em relação ao perfil clínico epidemiológico foi verificado que dos 26 cães positivos, 18 eram castrados, 13 se encontravam com protocolo vacinal com vacina polivalente atualizado, 11 possuíam vacina antirrábica, 2 eram de raça definida, 25 possuíam pelo curto, 14 eram positivos para *Ehrlichia* spp., 9 positivos para *Anaplasma* spp., 24 eram adultos e 12 assintomáticos. Para tais características foi observado um valor de  $p < 0,0001$ , conforme Figura 2; inferindo-se que as características clínico-epidemiológicas avaliadas são significativas para a ocorrência de LVC, ou seja, há uma forte evidência estatística de que essas características estão associadas à presença de LVC nos cães estudados. Todavia, não é possível determinar quais constituem um fator de risco.



**Figura 2.** Perfil clínico epidemiológico de casos positivos para Leishmaniose Visceral Canina no teste DPP;  $p < 0,0001$ , qui quadrado.

No que diz respeito à esterilização, é fundamental promover ações educativas que alertem e conscientizem sobre a importância da esterilização cirúrgica, o bem-estar animal e a responsabilidade na posse de animais de estimação. Essas iniciativas são essenciais para mitigar

problemas de saúde pública, especialmente no controle de doenças infecciosas, como a LV (DA SILVA; SILVA; AGUIAR; NASCIMENTO *et al.*, 2024). Foi verificado um elevado número de animais castrados neste estudo, este fato se deve as premissas de controle populacional do abrigo onde foi desenvolvido, sendo que os animais já residentes no abrigo, são todos esterilizados e animais resgatados tem sua saúde reestabelecida e são encaminhados para a esterilização cirúrgica.

Foi observada uma maior prevalência da doença em cães sem raça definida, o que pode estar associado ao fato desses animais estarem mais espalhados espacialmente nas ruas, em peridomicílios e em áreas rurais, o que os torna mais suscetíveis à infecção (SOARES; DE JESUS; OLIVEIRA; BARATA *et al.*, 2024). Tais cães nas ruas estão mais suscetíveis a acidentes e posterior resgate pelo abrigo, constituindo numerosamente os residentes do abrigo, com exceções de poucos animais de raça definida estudados.

Os cães de pelagem curta são os mais afetados pela Leishmaniose, um fato que pode ser explicado pela influência de fatores genéticos, como o gene FGF5, responsável pela determinação do comprimento do pelo. Devido a essa característica, esses animais possuem uma barreira mecânica reduzida, o que deixa a pele mais exposta e facilita o acesso do flebotomíneo, crucial para a transmissão da doença. Há ainda uma correlação entre o comprimento do pelo e a atração pelo vetor, uma vez que cães de pelo curto liberam uma quantidade maior de CO<sub>2</sub> em comparação aos de pelo longo, tornando-os mais atrativos para o vetor (SOARES; DE JESUS; OLIVEIRA; BARATA *et al.*, 2024). Outros estudos também trazem como fator de risco a pelagem média, além da curta (CHIYO; DOS SANTOS; DE SOUZA; RIVAS *et al.*, 2023). Condizente com resultados encontrados, pois neste estudo os cães avaliados eram predominantemente de pelo curto, uma característica comum dos cães do abrigo, o que tendencia a ocorrência, bem como dos animais positivos, com exceção de apenas um cão de pelagem média. Além disso, o abrigo nesse contexto, se torna um local de aglomerados de cães com menor barreira mecânica liberando CO<sub>2</sub>, sendo um local atrativo para o flebotomíneo.

Alguns autores apontam uma maior soropositividade em cães jovens, o que é frequentemente associado à falta de imunidade adquirida e à reposição de cães eutanasiados na população, permitindo a entrada de indivíduos mais jovens e suscetíveis à infecção. No entanto, também há registros de maior prevalência da doença em cães adultos, o que pode ser explicado pelo longo período de latência da infecção. Nesse cenário, é possível que esses cães tenham contraído a infecção ainda filhotes, mas só manifestem resultados positivos nos testes

diagnósticos na fase adulta (COSTA; BLANGIARDO; RODAS; NUNES *et al.*, 2018). Neste estudo foram encontrados 24 cães (92,30%) adultos (maiores de 12 meses de idade) positivos, contrastando com a primeira hipótese e em consonância com a segunda. Além disso, o resultado obtido pode ser explicado pelo tempo de permanência dos animais positivos no abrigo, sendo que muitos animais já eram residentes do abrigo e passaram toda a vida após o resgate neste estabelecimento, se encontrando na fase adulta no momento do diagnóstico.

Outro fator para a maior prevalência em cães adultos se deve a estes animais estarem a mais tempo expostos ao risco de repasto sanguíneo pelo flebotomíneo (SOARES; DE JESUS; OLIVEIRA; BARATA *et al.*, 2024), no ambiente do abrigo. Além disso, pode estar associado a predominância da adoção de cães jovens, em relação aos idosos, contribuindo para este resultado. Não foi possível tratar da faixa etária de forma mais detalhada, pois ao chegarem no abrigo os animais recebem uma idade estimada, muitas vezes não condizente com a realidade.

É importante destacar que já existem alguns estudos onde não foi observada correlação entre idade e LVC (COSTA; BLANGIARDO; RODAS; NUNES *et al.*, 2018); (DA SILVA, 2020). Bem como a ausência de associação com sintomatologia, esterilização (DA SILVA, 2020), raça e tamanho do pelo (CARVALHO; LUZ; RODRIGUES; DIAS *et al.*, 2019). Apesar dos resultados encontrados sugerirem relação com a ocorrência da doença.

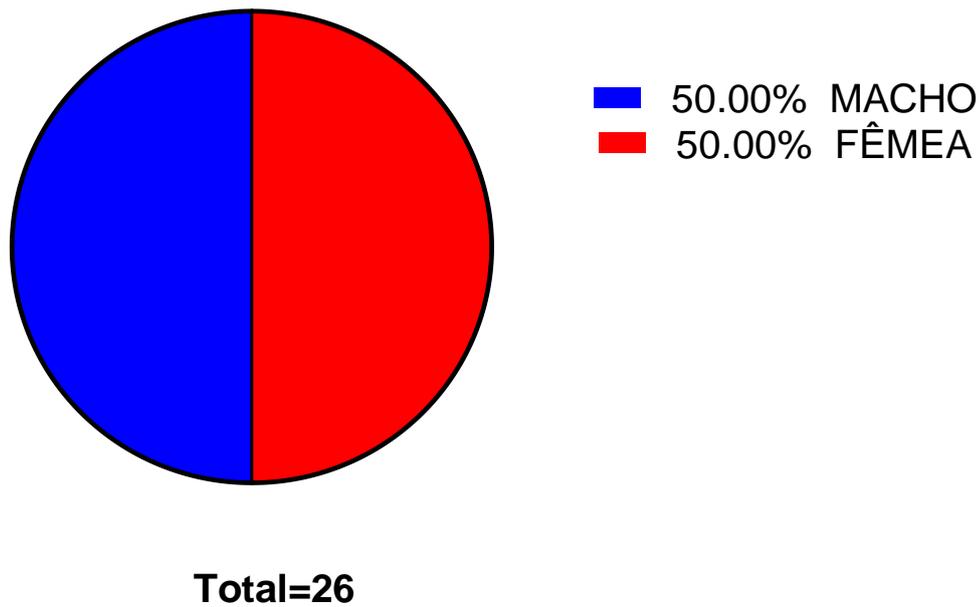
Diversos ectoparasitas, como piolhos, pulgas, ácaros e carrapatos, infestam cães em diferentes biomas e condições climáticas brasileiras. Já foi descrita a ocorrência de *Rhipicephalus sanguineus* coletados de cães no Brasil naturalmente infectados com *L. infantum*, sugerindo um papel potencial como hospedeiro secundário de LVC. Além disso, sendo o principal vetor de bactérias gram-negativas intracelulares obrigatórias do gênero *Ehrlichia*. No que se refere à *E. canis*, um estudo revelou a presença dessa bactéria em coinfeções, não apenas com *Leishmania spp.*, mas também com *Babesia spp.* ou *A. platys*. Autores descrevem prevalências de *E. canis* de 20,9%, 44,7%, 16,0% e 5,7% no Brasil, de acordo com a região (ESTEVAM, 2023). No presente estudo, foi encontrada uma prevalência de 53,84% de *E. canis* em coinfeção com *Leishmania spp.* e 34,61% de coinfeção envolvendo *Leishmania spp.* e *A. platys*, fato que demonstra relevância. Por se tratar de animais de abrigo, que vivem em condições de superpopulação, são recorrentes as administrações de ectoparasitas em todos os animais residentes, todavia, ainda são encontrados carrapatos rotineiramente, o que pode explicar a ocorrência das doenças supracitadas em animais soropositivos para LVC.

Cães infectados com *E. canis* têm 12,4 vezes mais chance de desenvolver Leishmaniose Visceral Canina (LVC) clínica em comparação com cães não infectados por *E. canis*. A

presença de *Ehrlichia spp.* nos macrófagos pode inibir significativamente a resposta imune inata do tipo Th1, o que favorece a sobrevivência de *L. infantum* dentro das células hospedeiras coinfectadas (ESTEVAM, 2023). Neste contexto, a prevalência elevada de coinfeções encontradas no estudo, pode criar um ambiente imunológico mais favorável para a sobrevivência e multiplicação de *L. infantum*, ocorrendo a progressão da doença, fato importante para o monitoramento dos casos positivos quanto a progressão clínica da LVC.

A prevalência de *A. platys* varia conforme a região e é influenciada pelo método de diagnóstico utilizado. Relatos indicam prevalências de 15,46% no Mato Grosso do Sul, 14,07% em Porto Alegre, 22,8% em Minas Gerais e 18,5% em Belo Horizonte (ESTEVAM, 2023). No presente estudo, foi encontrada uma prevalência de 34,61%, superior à descrita em outras regiões. Esse resultado pode ser explicado pelo fato de *Anaplasma platys* e *E. canis* geralmente ocorrerem nas mesmas áreas, com os mesmos cães frequentemente apresentando evidências de exposição ou infecção por ambos os patógenos, o que acompanha a maior prevalência de *E. canis* observada neste estudo. A infecção por *A. platys* também afeta a manutenção da infecção por *L. infantum*, pois reduz a função dos neutrófilos, células responsáveis pela eliminação de patógenos intracelulares, facilitando assim a infecção (ESTEVAM, 2023).

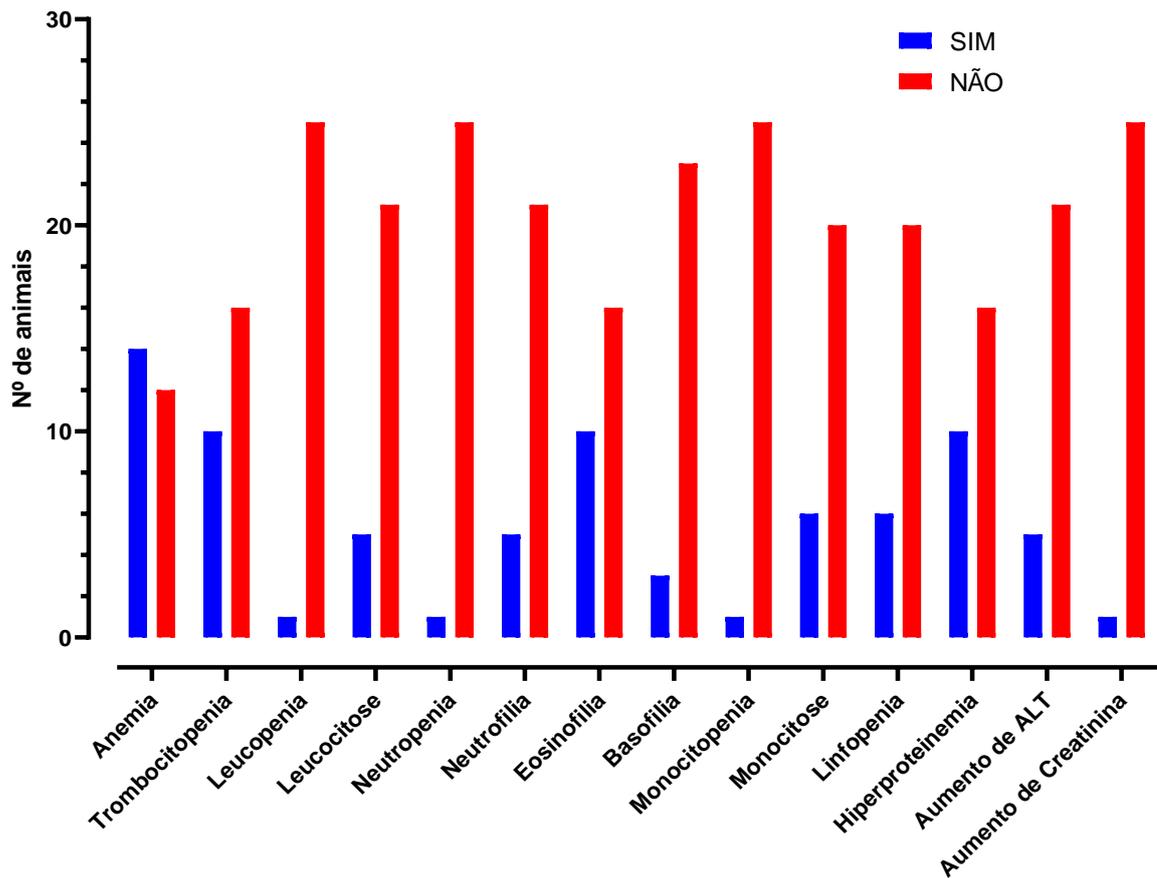
No que se refere ao sexo dos animais positivos, este fator é comumente associado à LVC (SOARES; DE JESUS; OLIVEIRA; BARATA *et al.*, 2024). Neste estudo foi observado que 50% (13/26) dos casos positivos se referiam a cães machos e 50% a fêmeas, com valor de  $p > 0,9999$ , conforme Figura 3. O resultado apresentado indica que, neste estudo específico, a proporção de cães machos e fêmeas positivos para Leishmaniose Visceral Canina (LVC) foi quase equivalente. A análise estatística sugere que não houve diferença estatisticamente significativa entre os sexos dos cães infectados.



**Figura 3.** Sexo dos casos positivos para Leishmaniose Visceral Canina no teste DPP;  $p > 0,9999$ , qui quadrado.

Acredita-se que as fêmeas podem ser mais susceptíveis a LVC devido alterações hormonais e imunológicas que ocorrem durante a fase do ciclo estral e posteriormente durante a gestação (SOARES; DE JESUS; OLIVEIRA; BARATA *et al.*, 2024). Entretanto, os resultados deste estudo não confirmaram essa relação, além disso não foi encontrada associação significativa em diversos outros estudos, corroborando para a falta de associação entre sexo e infecção, reforçando que essa variável pode não ser determinante para o risco de infecção por LVC (CARVALHO; LUZ; RODRIGUES; DIAS *et al.*, 2019; COSTA; BLANGIARDO; RODAS; NUNES *et al.*, 2018); (DA SILVA, 2020);. Ademais, apenas três (3/13) fêmeas soropositivas não eram esterilizadas, não havendo possível influência do fator ciclo estral e gestação na maioria dos animais.

Durante a análise hematológica dos animais soropositivos para LVC, diversas alterações foram encontradas, como anemia em 53,84% dos casos, trombocitopenia (38,46%), eosinofilia (38,46%) e hiperproteinemia (38,46%). Todas as alterações foram relacionadas com a LVC e obteve-se um valor de  $p < 0,0001$ , conforme Figura 4; demonstrando que essas alterações são altamente significativas e, portanto, não ocorreram por acaso. Isso reforça a associação direta entre a infecção por LVC e as disfunções hematológicas observadas.



**Figura 4.** Alterações hematológicas de casos positivos para Leishmaniose Visceral Canina no teste DPP;  $p < 0,0001$ , qui quadrado.

Na leishmaniose visceral, a anemia pode resultar em alterações eritrocitárias significativas, que provavelmente afetam a adesão e as propriedades reológicas dessas células (SILVA; COTRIM; CONCEICAO; MARINS *et al.*, 2018). Um estudo demonstrou uma redução no número de eritrócitos, hematócrito e plaquetas em cães com leishmaniose visceral, sugerindo a presença de anemia leve e a possível presença de imunoglobulinas ligadas às plaquetas (SILVA; COTRIM; CONCEICAO; MARINS *et al.*, 2018). Destaca-se como alterações laboratoriais comuns a anemia não regenerativa, variando de leve a grave, e/ou anemia hemolítica imunomediada, trombocitopatias imunomediadas, trombocitose ou trombocitopenia (SOLANO-GALLEG0; MIRO; KOUTINAS; CARDOSO *et al.*, 2011). Tais alterações envolvendo diferentes graus de anemia foram observadas de forma recorrente (14/26), condizente com estudos, possivelmente em decorrência das disfunções hematológicas ocasionadas pela *L. infantum*, bem como a trombocitopenia (10/26) esteve presente.

A eritropoiese ineficaz pode ser decorrente do caráter crônico da doença, perda sanguínea ou lise eritrocitária mediada pela produção de autoanticorpos, resultando no

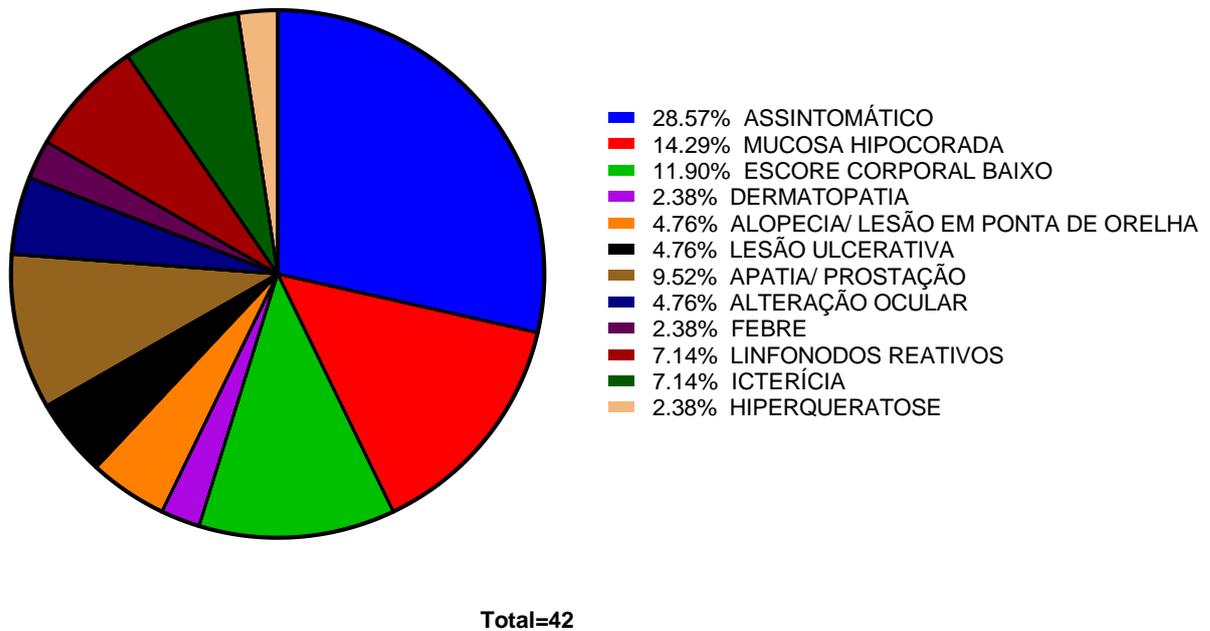
sequestro esplênico. Além disso, a trombocitopenia observada nos animais infectados pode estar relacionada ao estágio clínico da doença e à presença de anticorpos antiplaquetários IgM e IgG (SILVA; COTRIM; CONCEICAO; MARINS *et al.*, 2018). Podendo a anemia e trombocitopenia encontradas ainda estarem associadas a presença autoanticorpos, o que também condiz com a hiperproteinemia observada em 38,46% dos casos. Ademais, é válido ressaltar que havia animais positivos para LVC coinfetados com hemoparasitoses, com potencial de ocasionar tais alterações hematológicas observadas simultaneamente.

Um estudo relatou que cães infectados por *L. infantum* apresentaram anemia normocítica normocrômica, uma condição frequentemente associada a doenças infecciosas crônicas que envolvem depressão da medula óssea, além de hiperproteinemia e hipergamaglobulinemia (DA SILVA; SILVA; AGUIAR; NASCIMENTO *et al.*, 2024). Logo, os achados deste estudo estão de acordo com as alterações típicas esperadas em casos de Leishmaniose Visceral Canina (LVC). Outras alterações frequentes incluem hiperglobulinemia e hipoalbuminemia, elevação nos níveis de dimetilarginina simétrica (SDMA), ureia e creatinina e alterações hepática, embora com menor frequência (BRASILEISH, 2018). Neste estudo não foi possível a realização de uma avaliação hematológica e bioquímica mais aprofundada, apesar de sua importância clínica, contudo, também foi observada hiperglobulinemia em 10/26 casos, podendo estar associada a produção de anticorpos e em menor ocorrência também foi observada a elevação de creatinina e ALT, em 1/26 e 5/26 casos, respectivamente.

A eosinofilia está frequentemente associada a funções anti-inflamatórias, distúrbios de hipersensibilidade provocados por prurido decorrente de picadas de ectoparasitas e infecções por helmintos. Nos abrigos, o controle eficaz de ectoparasitas e endoparasitas é um grande desafio, o que certamente contribui para a ocorrência de eosinofilia (DA SILVA, 2020). Esse fato pode explicar a presença de eosinofilia em 10 dos 26 casos observados. Além disso, essa alteração é frequentemente detectada nos animais do abrigo em questão, independentemente da disfunção que apresentem.

Por fim foram verificados os sinais clínicos apresentados pelos animais soropositivos para LVC, dentre os quais houve predomínio de cães assintomáticos 12/26, seguido por cães apresentando mucosas hipocoradas 6/26, escore corporal baixo 5/26, apatia/prostração 4/26 e demais em menor frequência. A análise estatística revelou um valor de  $p=0,0163$ , conforme Figura 5, indicando que há diferença estatística significativa entre os diferentes sinais clínicos apresentados pelos animais, sugerindo que a distribuição dos sintomas não ocorre de forma

aleatória, mas sim com uma frequência estatisticamente relevante, destacando o predomínio de cães assintomáticos.



**Figura 5.** Alterações clínicas em casos positivos de Leishmaniose Visceral Canina no teste DPP;  $p=0,0163$ , qui quadrado.

Há relatos de infecção assintomática por *Leishmania* spp. com até 25% de soroprevalência em cães domésticos (DA SILVA; SILVA; AGUIAR; NASCIMENTO *et al.*, 2024). Neste estudo foi verificada uma infecção assintomática em 28,57% dos casos, muito próximo do valor encontrado em estudos. Já tendo sido encontradas prevalências ainda maiores, de 66% de infecção assintomática (CARVALHO; LUZ; RODRIGUES; DIAS *et al.*, 2019). Esses resultados, juntamente com os deste estudo, destacam a relevância desse fato para a epidemiologia da leishmaniose visceral, já que cães assintomáticos comprovadamente têm a capacidade de infectar flebotomíneos (CARVALHO; LUZ; RODRIGUES; DIAS *et al.*, 2019), uma vez que podem apresentar parasitismo cutâneo mesmo na ausência de sinais clínicos (DA SILVA; SILVA; AGUIAR; NASCIMENTO *et al.*, 2024). Reforçado a importância da realização de inquéritos soropidemiológicos mesmo em cães assintomáticos.

As lesões ocasionadas pela *Leishmania* spp. podem envolver qualquer órgão e atingir todos os tecidos e fluidos orgânicos, uma vez que se caracteriza como uma doença crônica e generalizada (BRASILEISH, 2018). São descritos como sinais clínicos comuns a linfadenopatia, úlceras cutâneas, ulceração em orelhas, descamação, onicogrifose (SILVA; COTRIM; CONCEICAO; MARINS *et al.*, 2018), conjuntivite, (DA SILVA; SILVA; AGUIAR; NASCIMENTO *et al.*, 2024), emagrecimento, letargia, palidez de mucosas,

esplenomegalia, poliúria e polidipsia, febre, vômito e diarreia, dermatites, blefarites, epistaxe, dentre outros (BRASILEISH, 2018). Apesar de em menor frequência, diversos sinais clínicos condizentes com LVC foram observados neste estudo, estando de acordo com diversos autores e dentro do esperado para o curso clínico da doença. Sendo válido ressaltar a existência de coinfeções, possivelmente também influenciando no aparecimento de eventuais sinais clínicos observados.

## 5. CONCLUSÃO

Foi possível concluir a existência de uma prevalência elevada (13%) de cães soropositivos para LVC no teste de Triagem DPP® em um abrigo de animais, localizado no município de Sinop, em Mato Grosso. Foram observadas novas hipóteses em teste sorológico confirmatório da LVC preconizado pelo Ministério da Saúde (EIA). Foi verificada a necessidade de aplicação de demais métodos diagnósticos, como o método molecular (PCR), com a finalidade aumentar a precisão dos resultados. Os animais positivos para LVC no teste DPP® apresentam condições significativas estatisticamente para a ocorrência de LVC, como características clínico epidemiológicas, alterações hematológicas e sinais clínicos e, não significativas, como o sexo e métodos diagnóstico.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, A. P.; PEREIRA JUNIOR, A. M.; PAULO, P. F. M.; PINTO, A. M. M. *et al.* The spread of visceral leishmaniasis in Brazil: the first canine cases described in Ji-Parana, Rondonia, Brazil. **Rev Bras Parasitol Vet**, 30, n. 4, p. e011021, 2021.

APAMS, **Associação Protetora dos Animais do Município de Sinop**. Disponível em: <https://apams.com.br/a-apams>. Acesso em: 26 ago. 2024

BRACARENSE, C. B.; MESQUITA, L. d. O.; ANTUNES, L. P.; OLIVEIRA, S. d. S. *et al.* Leishmaniose visceral. **Seven Edit**, p. 36-47, 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim epidemiológico: Doenças Tropicais negligenciadas**. Brasília, DF, 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/t/tracoma/publicacoes/boletim-epidemiologico-doencas-tropicais-negligenciadas/view>. Acesso em: 30 ago. 2023

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância de Doenças Transmissíveis. **Nota Técnica Conjunta 01/2011 CGDT/CGLAB/DVIT/SVS/MS**. Brasília, DF, 2011. Disponível em: [https://crmvmms.org.br/wp-content/uploads/2019/10/nota-tecnica-no.-1-2011\\_cglab\\_cgdt1\\_lvc\\_98999048.pdf](https://crmvmms.org.br/wp-content/uploads/2019/10/nota-tecnica-no.-1-2011_cglab_cgdt1_lvc_98999048.pdf). Acesso em: 02 set. 2024.

BRASILEISH, Grupo de Estudos em Leishmaniose Animal. **Diretrizes Para o Diagnóstico, Estadiamento, Tratamento e Prevenção da Leishmaniose Canina, 2018**. Disponível em: [https://www.brasileish.com.br/\\_files/ugd/3079c5\\_917ad5b903ef49cb9eb2502929e88b20.pdf](https://www.brasileish.com.br/_files/ugd/3079c5_917ad5b903ef49cb9eb2502929e88b20.pdf). Acesso em: 05 set. 2024.

CAN, H.; DOSKAYA, M.; OZDEMIR, H. G.; SAHAR, E. A. *et al.* Seroprevalence of Leishmania infection and molecular detection of Leishmania tropica and Leishmania infantum in stray cats of Izmir, Turkey. **Exp Parasitol**, 167, p. 109-114, Aug 2016.

CARVALHO, A. G.; LUZ, J. G. G.; RODRIGUES, L. D.; DIAS, J. V. L. *et al.* Factors associated with Leishmania spp. infection in domestic dogs from an emerging area of high endemicity for visceral leishmaniasis in Central-Western Brazil. **Res Vet Sci**, 125, p. 205-211, Aug 2019.

CHIYO, L.; DOS SANTOS, A. G.; DE SOUZA, A. B.; RIVAS, A. V. *et al.* Cross-sectional spatial and epidemiological analysis of canine visceral leishmaniasis cases in the triple border

region, Brazil, Argentina and Paraguay, between 2015 and 2020. **Acta Trop**, 239, p. 106811, Mar 2023.

COSTA, D.; BLANGIARDO, M.; RODAS, L. A. C.; NUNES, C. M. *et al.* Canine visceral leishmaniasis in Aracatuba, state of Sao Paulo, Brazil, and its relationship with characteristics of dogs and their owners: a cross-sectional and spatial analysis using a geostatistical approach. **BMC Vet Res**, 14, n. 1, p. 229, Jul 31 2018.

DA SILVA, A. S.; SILVA, M. M. d. M.; AGUIAR, C. d. O. M.; NASCIMENTO, P. R. P. *et al.* Challenges of animals shelters in caring for dogs infected with Leishmania and other pathogens. **Vet Parasitol Reg Stud Reports**, 49, p. 100988, Apr 2024.

DA SILVA, A. S. **Estudo Clínico-Epidemiológico da Infecção por Leishmania sp em um Abrigo de Cães em Área Endêmica de Leishmaniose Visceral na Região Metropolitana de Natal, Rio Grande do Norte.** Tese de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2023.

DA SILVA, A. T. **Diagnóstico Laboratorial de Leishmania spp. em Cães Oriundos de Abrigos da Região Metropolitana do Estado do Rio de Janeiro.** Tese de Doutorado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2020.

DA SILVA, R. R.; SILVA, A. d. S.; CAMPOS, R. N. d. S. Leishmaniose Visceral Em Cães No Brasil: Revisão De Literatura. **Scien Animal Health**, 9, n. 1, p. 54-75, 2021.

DANTAS-TORRES, F.; MIRO, G.; BANETH, G.; BOURDEAU, P. *et al.* Canine Leishmaniasis Control in the Context of One Health. **Emerg Infect Dis**, 25, n. 12, p. 1-4, Dec 2019.

DE CARVALHO, F. L. N.; RIBOLDI, E. O.; BELLO, G. L.; RAMOS, R. R. *et al.* Canine visceral leishmaniasis diagnosis: a comparative performance of serological and molecular tests in symptomatic and asymptomatic dogs. **Epidemiol Infect**, 146, n. 5, p. 571-576, Apr 2018.

DE MASSIS, F.; IPPOLITI, C.; SIMONA, I.; TITTARELLI, M. *et al.* Canine Leishmaniasis: Serological Results in Private and Kennel Dogs Tested over a Six-Year Period (2009-2014) in Abruzzo and Molise Regions, Italy. **Microorg**, 8, n. 12, Dec 1 2020.

ESTEVAM, L. G. T. M. **Leishmaniose Visceral Canina: Aspectos Epidemiológicos em Ambientes com Elevado Número de Animais e o Estudo de Ctenocephalides felis felis no Ciclo de Leishmania infantum.** Tese de Doutorado. Fundação Oswaldo Cruz, 2023.

ESTEVAM, L.; VELOSO, L. B.; SILVA, G. G.; MORI, C. C. *et al.* Leishmania infantum infection rate in dogs housed in open-admission shelters is higher than of domiciled dogs in an endemic area of canine visceral leishmaniasis. Epidemiological implications. **Acta Trop**, 232, p. 106492, Aug 2022.

FIGUEIREDO, F. B.; VASCONCELOS, T. C. B. d.; MADEIRA, M. d. 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. **Mem do Instit Oswal Cruz**, 113, p. e180260, 2018.

FREITAS, A. Leishmaniose visceral canina: Revisão. **Pubvet**, 16, n. 10, 2022.

IBGE, **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, 2023. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mt/sinop/panorama>. Acesso em: 15 ago. 2024.

GALDIOLI, L.; ROCHA, Y. d. S. G. d.; GARCIA, R. d. C. M. Perfil dos abrigos de cães e gatos brasileiros quanto às políticas externas e internas. **Resear, Socie and Develop**, 11, n. 9, p. e48111932253, 07/16 2022.

KMETIUK, L. B.; DE CAMPOS, M. P.; BACH, R. V. W.; BRANDAO, A. P. D. *et al.* Serosurvey of anti-Leishmania (Leishmania) infantum antibodies in hunting dogs and hunters in Brazil. **Vet World**, 14, n. 10, p. 2735-2738, Oct 2021.

LEISHVET. **Practical Management of Canine Leishmaniosis**, 2024. Disponível em: <https://www.leishvet.org/wp-content/uploads/2024/04/FS-ALIVE24-canine.pdf>. Acesso em: 03 set. 2024.

LOPES, L.; BONFIM, M.; SANTI, F.; BERNDT, T. *et al.* Frequency of dogs with anti Leishmania Chagasi antibodies by immunochromatographic assay (DPP) in the city of Sinop, Mato Grosso, Brazil. **Scient Electron Arch**, 13, n. 11, p. 97-100, 2020.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Coordenação de Fiscalização de Produtos Veterinários. **Nota Técnica nº 11/2016/CPV/DFIP/SDA/GM/MAPA. Processo nº 21000.042544/2016-94.** Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/produtos-veterinarios/legislacao-1/notas-tecnicas/nota-tecnica-no-11-2016-cpv-dfip-sda-gm-mapa-de-1-09-2016.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2024.

MENEGATTI, J. A.; DIAS, A. Epidemiology of visceral leishmaniasis in municipalities of Mato Grosso and the performance of surveillance activities: an updated investigation. **Rev Bras Parasitol Vet**, 33, n. 1, p. e015623, 2024.

MEURER, I. R.; COIMBRA, E. S. Doenças tropicais negligenciadas e o seu contexto no Brasil. **HU revist**, 48, p. 1-2, 2022.

NINA, L. N. d. S.; CALDAS, A. d. J. M.; SOEIRO, V. M. d. S.; FERREIRA, T. F. *et al.* Distribuição espaço-temporal da leishmaniose visceral no Brasil no período de 2007 a 2020. **Revist Paname de Salu Públic**, 47, p. e160, 2023.

OPAS. Organização Pan-Americana da Saúde. **Leishmanioses: Informe Epidemiológico nas Américas. Washington, D.C., 2019.** Disponível em: <https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/50505/2019-cde-leish-informe-epi-das-americas.pdf?sequence=2&isAllowed=y>. Acesso em: 28 ago. 2024.

RIBEIRO, M. P.; ALESSIO JUNIOR, L. E.; ALESSIO, A. M. Perfil epidemiológico da leishmaniose visceral humana no estado do Mato Grosso, Brasil-2010 a 2020. **Resear, Societ and Develop**, 11, n. 12, p. e68111234114-e68111234114, 2022.

RIBEIRO, R. R.; MICHALICK, M. S. M.; DA SILVA, M. E.; DOS SANTOS, C. C. P. *et al.* Canine Leishmaniasis: An Overview of the Current Status and Strategies for Control. **Biomed Res Int**, 2018, p. 3296893, 2018.

RODRIGUES, C. M. Animal accumulators from the perspective of health promotion and surveillance. **ABCS Heal Sci**, 44, n. 3, 2019.

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

SILVA, J. N. D.; COTRIM, A. C.; CONCEICAO, L.; MARINS, C. M. F. *et al.* Immunohaematological and rheological parameters in canine visceral leishmaniasis. **Rev Bras Parasitol Vet**, 27, n. 2, p. 211-217, Apr-Jun 2018.

SIRIAS, I. D. P. **Epidemiologia da Leishmaniose Canina em Cães de um Abrigo no Município de Lavras, Minas Gerais.** Tese de Mestrado. Universidade Federal de Lavras, 2021.

SOARES, M. E.; DE JESUS, J. V.; OLIVEIRA, M. R.; BARATA, C. V. *et al.* Análise espacial e epidemiológica da leishmaniose canina em animais mantidos em abrigos no leste e sertão do estado de Sergipe, Brasil. **Braz Jour of Animal Environ Resear**, 7, n. 2, p. e69792-e69792, 2024.

SOLANO-GALLEGO, L.; MIRO, G.; KOUTINAS, A.; CARDOSO, L. *et al.* LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. **Parasit Vectors**, 4, p. 86, May 20 2011.

THIES, S. F. **Aspectos da Ecologia de Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em Área de Ocorrência de Leishmaniose Visceral Canina: Sinop, Mato Grosso**. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Mato Grosso, 2017.

THIES, S. F.; BRONZONI, R. V.; ESPINOSA, M. M.; SOUZA, C. O. *et al.* Frequency and diversity of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in Sinop, State of Mato Grosso, Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop**, 49, n. 5, p. 544-552, Sep-Oct 2016.

UNEP and ILRI. United Nations Environment Programme and International Livestock Research Institute. **Preventing the Next Pandemic: Zoonotic diseases and how to break the chain of transmission. Nairobi, Kenya, 2020.** Disponível em: [https://www.unep.org/resources/report/preventing-future-zoonotic-disease-outbreaksprotecting-environment-animals-and?\\_ga=2.140005748.617095084.1685151505-533650661.1685151505](https://www.unep.org/resources/report/preventing-future-zoonotic-disease-outbreaksprotecting-environment-animals-and?_ga=2.140005748.617095084.1685151505-533650661.1685151505). Acesso em: 26 ago. 2023.

WHO. World Health Organization. **Ending the neglect to attain the Sustainable Development Goals: a road map for neglected tropical diseases 2021–2030**. Geneva, 2020. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240010352>. Acesso em: 01 set. 2023

ZANGIROLAMI-RAIMUNDO, J.; ECHEIMBERG, J. d. O.; LEONE, C. Research methodology topics: Cross-sectional studies. **Jour of Hum Grow Develop**, 28, n. 3, p. 356-360, 2018.

## 7. ARTIGO

### OCORRÊNCIA DE LEISHMANIOSE EM CÃES DE ABRIGO NA REGIÃO NORTE DE MATO GROSSO: ANÁLISE CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICA

Melo, LMM; Castro, BG.

**Resumo:** A leishmaniose visceral canina (LVC) é uma zoonose causada por protozoários do gênero *Leishmania*, transmitida por flebotomíneos, com os cães atuando como principais reservatórios. Este estudo teve como objetivo identificar a ocorrência de *Leishmania infantum* em cães de abrigo na região Norte de Mato Grosso e analisar o perfil clínico-epidemiológico dos animais positivos. Foram avaliados 200 cães, dos quais 26 (13%) foram soropositivos no teste imunocromatográfico Dual-Path Platform (DPP). As amostras foram submetidas ao teste confirmatório Enzimaimunoensaio (EIA), resultando em apenas 1 amostra positiva. Foi realizada a comparação entre o resultado dos testes sorológicos utilizados, sendo encontrado um valor de  $p=0,3299$ . Os dados foram analisados através do teste Qui-quadrado de Pearson e teste exato de Fisher a um nível de significância de 95%, utilizando o software GraphPad Prism 8. Foi realizada a análise clínico epidemiológica dos animais positivos no teste imunocromatográfico (DPP) e observou-se que a maioria dos cães infectados neste teste era adulta, sem raça definida, de pelagem curta, e apresentava sinais clínicos variáveis, como mucosas hipocoradas e escore corporal baixo, além de muitos animais assintomáticos. A coinfeção por *Ehrlichia spp.* e *Anaplasma spp.* foi significativa, sugerindo uma interação importante entre essas infecções e a LVC. Alterações hematológicas como anemia, trombocitopenia, eosinofilia e hiperproteinemia foram frequentes. Concluiu-se que cães de abrigo são importantes potenciais focos de LVC, apresentando grande relevância para a saúde pública e a epidemiologia da LV em humanos. A vigilância epidemiológica e o manejo adequado desses animais são essenciais para o controle da doença, principalmente em áreas não endêmicas.

**Palavras-chave:** Leishmaniose Visceral Canina; Dual-Path Platform (DPP); enzimaimunoensaio (EIA).

**Abstract:** Canine visceral leishmaniasis (CVL) is a zoonosis caused by protozoa of the genus *Leishmania*, transmitted by sandflies, with dogs acting as the main reservoirs. This study aimed to identify the occurrence of *Leishmania infantum* in shelter dogs in the northern region of Mato Grosso and to analyze the clinical-epidemiological profile of positive animals. A total of 200 dogs were evaluated, of which 26 (13%) were seropositive in the Dual-Path Platform (DPP) immunochromatographic test. The samples were submitted to the confirmatory Enzyme Immunoassay (EIA) test, resulting in only 1 positive sample. The results of the serological tests used were compared, and a value of  $p=0.3299$  was found. Data were analyzed using Pearson's chi-square test and Fisher's exact test at a significance level of 95%, using the GraphPad Prism 8 software. The clinical epidemiological analysis of the animals positive in the immunochromatographic test (PPD) was performed and it was observed that most of the dogs infected in this test were adults, of mixed breed, with short coats, and presented variable clinical signs, such as pale mucous membranes and low body score, in addition to many asymptomatic animals. Co-infection with *Ehrlichia spp.* and *Anaplasma spp.* was significant, suggesting an important interaction between these infections and CVL. Hematological alterations such as anemia, thrombocytopenia, eosinophilia, and hyperproteinemia were frequent. It was concluded that shelter dogs are important potential foci of CVL, presenting great relevance to public health and the epidemiology of VL in humans. Epidemiological surveillance and proper management of these animals are essential for disease control, especially in non-endemic areas.

**Key words:** Canine Visceral Leishmaniasis; Dual-Path Platform (DPP); Enzyme Immunoassay (EIA).

## Introdução

A leishmaniose é uma zoonose causada por protozoários intracelulares obrigatórios pertencentes ao gênero *Leishmania*, sendo estes transmitidos entre os hospedeiros por fêmeas infectadas de flebotômíneos (ROMBOLA; BARLOZZARI; CARVELLI; SCARPULLA *et al.*, 2021). Nas Américas a *Leishmania infantum* é a espécie mais comumente envolvida na transmissão, bem como o vetor da espécie *Lutzomyia longipalpis*, sendo o cão o principal reservatório (BRASIL, 2021).

No mundo 75 países são endêmicos para Leishmaniose Visceral (LV) e, em 2017, 95% dos novos casos foram relatados em sete países, dentre eles o Brasil (WHO, 2020). A leishmaniose é a segunda afecção com o maior número de pessoas afetadas em todo o mundo, somente atrás da malária, sendo estimada uma incidência que incluem 12 milhões de pessoas, dentre casos viscerais (LV) e cutâneos (LC) (DE MASSIS; IPPOLITI; SIMONA; TITTARELLI *et al.*, 2020). A maioria dos casos de LV estão concentrados no Brasil, África Oriental e Índia, com 50.000 a 90.000 novos casos anualmente. Esse número pode ser ainda maior, já que a notificação da doença não é obrigatória em todos os países, resultando em uma subestimação da sua incidência (DA SILVA; SILVA; AGUIAR; NASCIMENTO *et al.*, 2024).

Dentre os anos de 2010 e 2019, dos 36.432 casos notificados no país, 54,37%, ocorreram na região nordeste, concentrando o maior número de casos. Já a região Centro-Oeste foi responsável por 2.960, equivalente a 8,13% dos casos, dentre os quais 318 ocorreram no estado de Mato Grosso, com o maior número registrado em 2010, sendo de 55 (RIBEIRO; ALESSIO JUNIOR; ALESSIO, 2022).

A LV é uma enfermidade fatal em mais de 95% dos casos quando não tratados. Além disso, está relacionada a fatores como desnutrição, habitação precária, sistema imunológico debilitado, mobilidade populacional, alterações ambientais e climáticas, além da falta de recursos financeiros. Por esses motivos, a LV é classificada como uma doença tropical negligenciada (WHO, 2020).

É conhecida a correlação espacial entre casos humanos e elevada soroprevalência canina. Normalmente, os casos caninos surgem antes dos casos humanos, indicando que a infecção em cães pode servir como um importante indicador da transmissão da doença. (ALMEIDA; PEREIRA JUNIOR; PAULO; PINTO *et al.*, 2021). É relatado que em área rural, a proximidade do cão soropositivo aumenta em cinco vezes a chance de infecção humana

(CAN; DOSKAYA; OZDEMIR; SAHAR *et al.*, 2016). Essa dependência espacial de cães soropositivos para *Leishmania*, como precedente de casos humanos também foi demonstrada no estado de São Paulo, no Brasil e na Argentina, em áreas que anteriormente eram não endêmicas para LV humana e se tornaram endêmicas (DA SILVA; SILVA; AGUIAR; NASCIMENTO *et al.*, 2024).

Estudos realizados quanto a distribuição da enfermidade, preveem a sua expansão no estado de Mato Grosso. No ano de 2015 a Secretaria de Estado de Saúde de Mato Grosso, descreveu a ocorrência de LV em diversos municípios, porém ainda sem haver registro para o município de Sinop (THIES, 2017). Já em um estudo realizado com o objetivo de traçar o perfil epidemiológico da leishmaniose visceral humana no estado do Mato Grosso, dentre os anos de 2010 e 2020, foram confirmados 318 casos da doença no estado, sendo dois casos residentes no município de Sinop-MT (RIBEIRO; ALESSIO JUNIOR; ALESSIO, 2022).

No que tange a presença do vetor, já foram descritas oito espécies de flebotomíneos de importância médica para leishmanioses no município de Sinop-MT, encontradas em todos os ecótopos e em todos os meses do ano, o que demonstra o risco de exposição para a população do município (THIES, 2017).

A urbanização da LV apresenta um desafio significativo para a saúde pública no Brasil. Esse fenômeno é atribuído à ocupação desordenada do espaço geográfico, à adaptação das espécies vetores ao ambiente doméstico e à presença de animais que atuam como reservatórios (CARVALHO; LUZ; RODRIGUES; DIAS *et al.*, 2019).

Associado a estes fatores, o crescimento desordenado das áreas urbanas tem ainda ocasionado além de impactos demográficos, alteração na configuração da população de animais de estimação, muitas vezes resultando no abandono de cães e gatos, ficando estes expostos a uma infinidade de patógenos, através do contato com seus vetores. Para tal, com o objetivo de fornecer cuidados básicos de saúde, alimentação e higiene aos animais abandonados, existem no país diversos abrigos de cães e gatos (DA SILVA; SILVA; AGUIAR; NASCIMENTO *et al.*, 2024). Entretanto, os abrigos de animais são considerados relevantes para a saúde pública, pois podem atuar como locais de transmissão de doenças infecciosas (ESTEVAM; VELOSO; SILVA; MORI *et al.*, 2022).

Tendo em vista a relevância dos abrigos na transmissão de doenças infectocontagiosas, o impacto da LV na saúde pública e a ocorrência de casos em animais e humanos nos últimos anos, faz-se necessária a determinação do perfil sorológico para LV canina em animais de abrigo no estado de Mato Grosso, como precedente de casos humanos. A cidade de Sinop,

localizada no norte de Mato Grosso, tem observado uma expansão preocupante dos casos de Leishmaniose Visceral Canina (LVC) nos últimos anos, tanto no município quanto nas cidades vizinhas. Diante desse cenário, é essencial reforçar as medidas de vigilância epidemiológica para controlar e prevenir a propagação da doença. O presente estudo objetivou realizar o rastreio de cães de abrigo positivos para LVC e determinar seu perfil clínico-epidemiológico, visando contribuir para o aprimoramento das medidas de controle e prevenção pela vigilância epidemiológica da Leishmaniose Visceral, bem como impedir a da expansão da doença.

#### *Leishmaniose visceral canina*

A leishmaniose visceral ocorre devido a invasão de protozoários do gênero *Leishmania* ao sistema fagocítico mononuclear de hospedeiros mamíferos, como os cães, causando a leishmaniose visceral canina. Essa invasão ocorre principalmente durante períodos de hematofagia do vetor, flebotomíneos fêmeas pertencentes aos gêneros *Lutzomyia* (RIBEIRO; MICHALICK; DA SILVA; DOS SANTOS *et al.*, 2018).

Na América do Sul, a leishmaniose visceral canina (LVC) pode ser causada por diferentes espécies de *Leishmania*, sendo *Leishmania infantum* e *Leishmania braziliensis* as mais comuns e amplamente distribuídas. A infecção por *L. infantum* geralmente segue um curso mais crônico, podendo levar o animal ao óbito, mesmo com tratamento (BRASILEISH, 2018).

O seu principal vetor, *Lutzomyia longipalpis* está presente em locais úmidos, de baixa luminosidade e rico em matéria orgânica, sendo que as fêmeas se alimentam no período crepuscular e noturno (FREITAS, 2022). São encontrados principalmente em regiões periurbanas e áreas de transição entre meio urbano e silvestre, como florestas preservadas (KMETIUK; DE CAMPOS; BACH; BRANDAO *et al.*, 2021).

Os cães são os principais reservatórios do parasito em áreas urbanas e, por viverem próximos aos humanos, o controle efetivo da LVC é de extrema importância para a prevenção da leishmaniose visceral humana (ESTEVAM; VELOSO; SILVA; MORI *et al.*, 2022).

A maioria dos animais infectados pelo parasito apresentam uma infecção subclínica, que pode ser controlada espontaneamente. No entanto, essa infecção pode evoluir para a forma clínica devido a fatores como imunossupressão e infecções adicionais, que afetam a resposta imune. Se a resposta imune for mediada por células Th1, pode haver proteção eficaz contra a *Leishmania*, através do estímulo à produção de citocinas indutoras de atividade anti-*Leishmania* pelos macrófagos. Em contrapartida, uma resposta mediada por células Th2 induz a produção de citocinas que estimulam linfócitos B com resposta humoral produtora de anticorpos anti-*Leishmania*, que não protegem contra a infecção (BRASILEISH, 2018). Ao apresentarem a

resposta humoral há a ocorrência dos sinais clínicos, pela deposição de complexos imunes associados a resposta humoral intensa e alta carga parasitária (DA SILVA, 2023).

As manifestações clínicas da LVC podem ser sistêmicas, uma vez que é uma doença crônica e generalizada, afetando qualquer órgão, tecido ou fluido orgânico (SOLANO-GALLEGO; MIRO; KOUTINAS; CARDOSO *et al.*, 2011). Os sintomas incluem linfadenopatia generalizada, emagrecimento, alterações no apetite, letargia, palidez de mucosas, esplenomegalia, poliúria, polidipsia, febre, vômito e diarreia. Manifestações cutâneas incluem dermatite esfoliativa, alopecia, dermatite ulcerativa ou nodular e onicogribose. Além disso, podem ocorrer complicações oculares, lesões mucocutâneas, vasculopatias e neuropatias (SOLANO-GALLEGO; MIRO; KOUTINAS; CARDOSO *et al.*, 2011).

Como métodos de prevenção da LVC são implementados o tratamento de cães infectados, o que pode reduzir o número de reservatórios, e a proteção direta dos cães, pela utilização de produtos spot-on ou coleiras impregnadas com inseticida, contra o vetor (DE MASSIS; IPPOLITI; SIMONA; TITTARELLI *et al.*, 2020).

#### *Diagnóstico da leishmaniose visceral canina*

Os testes recomendados pelo Ministério da Saúde do Brasil para detectar LVC são o ensaio Dual-Path Platform<sup>®</sup> (DPP) para triagem e o ensaio imunoenzimático (ELISA) para confirmação. Análises moleculares, como a reação em cadeia da polimerase (PCR), podem ser utilizadas em conjunto com o diagnóstico sorológico para identificar as espécies de *Leishmania* responsáveis pela infecção. O diagnóstico específico é essencial, pois *L. braziliensis* e *L. amazonensis*, agentes etiológicos mais comuns da leishmaniose tegumentar americana (LTA) em humanos, também já foram identificados em cães infectados (ESTEVAM; VELOSO; SILVA; MORI *et al.*, 2022).

A PCR em tempo real já demonstrou ser capaz de detectar DNA de *Leishmania* em cães assintomáticos que obtiveram resultados negativos nos testes sorológicos recomendados pelo protocolo oficial brasileiro para LVC. Portanto, o método molecular é fundamental para a confirmação do diagnóstico de LVC, especialmente em animais assintomáticos provenientes de regiões não endêmicas (DE CARVALHO; RIBOLDI; BELLO; RAMOS *et al.*, 2018).

A PCR quantitativa (qPCR) é considerada o padrão-ouro para quantificar a carga parasitária em diferentes tecidos de cães infectados, independentemente de apresentarem manifestações clínicas. Esse método pode ser empregado tanto no diagnóstico quanto no monitoramento das infecções durante o tratamento. Todavia, embora o Brasil esteja se destacando em relação ao manejo diagnóstico e terapêutico da leishmaniose visceral em

humanos, já em cães, o diagnóstico sorológico duplo ainda é recomendado pelo Ministério da Saúde (DA SILVA; SILVA; AGUIAR; NASCIMENTO *et al.*, 2024).

#### *Papel do cão na epidemiologia da leishmaniose*

Os cães (*Canis familiaris*) são reconhecidos como os principais reservatórios domésticos da leishmaniose visceral no Brasil (CARVALHO; LUZ; RODRIGUES; DIAS *et al.*, 2019). A presença e a dinâmica dos reservatórios são essenciais para a manutenção e propagação do ciclo de transmissão da LV. Estes reservatórios podem ser classificados como silvestres e domésticos, responsáveis por manter o ciclo do parasita e facilitar sua transmissão aos humanos. O cão doméstico, em particular, desempenha um papel fundamental na disseminação da LV (BRACARENSE; MESQUITA; ANTUNES; OLIVEIRA *et al.*, 2024), embora um número crescente de outros hospedeiros mamíferos, incluindo humanos infectados, possa atuar como reservatório eficaz ao infectar vetores flebotômíneos, os cães permanecem como uma fonte indireta crucial em muitos contextos onde o ciclo de transmissão de *L. infantum* ocorre (DANTAS-TORRES; MIRO; BANETH; BOURDEAU *et al.*, 2019).

A ocorrência da LVC é impulsionada por condições ambientais e epidemiológicas favoráveis, que facilitam o contato entre os flebotômíneos infectados e os hospedeiros vertebrados, havendo a conclusão do ciclo biológico da *Leishmania* spp. (DE MASSIS; IPPOLITI; SIMONA; TITTARELLI *et al.*, 2020).

Diversos estudos epidemiológicos e moleculares indicam uma alta prevalência de infecção por *Leishmania infantum* em populações caninas, tornando esses animais os principais responsáveis pela manutenção e disseminação do parasita em áreas urbanas. Fatores como o contato com os cães, a estrutura dos grandes centros urbanos e a ineficácia ou ausência de políticas públicas contribuem para essa realidade (BRACARENSE; MESQUITA; ANTUNES; OLIVEIRA *et al.*, 2024).

#### *Abrigo de animais*

Abrigos são locais destinados a acolher diversos animais, com o objetivo de proteger tanto os próprios animais quanto os espaços públicos de potenciais riscos epidemiológicos. Esses abrigos podem ser de caráter público, privado ou misto. Segundo as Diretrizes da Associação de Veterinários de Abrigos para padrões de atendimento, os serviços prestados devem ser adequados à capacidade do abrigo de oferecer cuidados que garantam a satisfação de todas as necessidades dos animais, independentemente de seu estado de saúde, assegurando-lhes uma boa qualidade de vida durante sua permanência no local (DA SILVA, 2023).

No Brasil, os abrigos surgiram como uma tentativa de oferecer cuidados básicos temporários para estes animais errantes. No entanto, muitos abrigos acabam funcionando como lares permanentes para esses animais. Esses espaços devem ser temporários e devem aplicar os quatro "R": resgate seletivo, recuperação, ressocialização e reintrodução na sociedade (DA SILVA, 2023).

#### *Leishmaniose em cães de abrigo e seu impacto na saúde pública*

A falta de controle populacional resulta em abandono, mesmo o abandono de animais sendo considerado crime no Brasil. Favorecendo os maus-tratos, disseminação de doenças e impactos ambientais negativos, representando um desafio para o controle de doenças infecciosas, como a leishmaniose visceral canina (DA SILVA; SILVA; AGUIAR; NASCIMENTO *et al.*, 2024).

Um dos critérios essenciais para um abrigo de animais é a capacidade de prevenir e controlar doenças infectocontagiosas. Todos os animais que chegam ao abrigo devem ser vacinados, mantidos em quarentena se necessário, e isolados e tratados caso apresentem doenças contagiosas. Em ambientes com alta densidade populacional, o impacto de doenças infectocontagiosas é intensificado por fatores como o ambiente, a imunidade dos animais e as características epidemiológicas individuais (DA SILVA, 2023).

O acolhimento contínuo de cães resgatados em abrigos merece atenção especial, pois muitas vezes resulta em ambientes superlotados. Isso ocorre porque a maioria dos cães resgatados não é adequada para adoção, e a aglomeração em espaços confinados pode favorecer a disseminação de patógenos e vetores. Em áreas endêmicas para LVC, os abrigos podem se tornar focos de parasitas, colocando em risco os animais residentes, cães vizinhos e até mesmo seres humanos, especialmente crianças e idosos (ESTEVAM; VELOSO; SILVA; MORI *et al.*, 2022).

Estudos sobre a saúde animal em abrigos é limitada, e pouco se sabe sobre a prevalência de LVC ou das espécies de parasitas presentes nesses ambientes, criando um problema de saúde pública. Portanto, o número de animais acomodados em abrigos deve ser compatível com os recursos disponíveis e o número de cuidadores responsáveis (RODRIGUES, 2019).

## **Métodos**

### *Tipo do estudo*

Trata-se de um estudo epidemiológico descritivo, isto é, de prevalência, transversal e de caráter quantitativo e qualitativo que foi desenvolvido em um abrigo de animais na região Norte do Mato Grosso.

### *Local do Estudo*

O abrigo de animais escolhido para o estudo, a Associação Protetora dos Animais do município de Sinop (Apams), está situado no município de Sinop, ao Norte do estado de Mato Grosso, no Brasil (11°50'53" Sul e longitude de 55°38'57" Oeste). De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE (2023) a população residente em Sinop é de 196.312 pessoas em uma área territorial de 3.990,870 km<sup>2</sup>. O local em questão foi selecionado pela ocorrência de casos em cães anualmente, no município em que está inserido, apresentando no ano de 2021 um total de 12,82% de amostras reagentes, como resultado de inquéritos espontâneos para LVC no período de janeiro de 2019 a dezembro de 2021 (MENEGATTI; DIAS, 2024).

A APAMS, é uma associação sem fins lucrativos fundada em 29 de agosto de 2005, dedica-se desde então à proteção e ao bem-estar de animais vítimas de maus-tratos e abandono. Seu principal objetivo é resgatar animais das ruas, tratá-los, castrá-los e reintegrá-los à sociedade por meio da adoção.

#### *População e Coleta de dados*

Este estudo incluiu um total de 200 cães, entre animais residentes e aqueles atendidos pelo serviço médico veterinário do abrigo, provenientes de resgates. Todos os cães passaram por avaliação clínica e coleta de amostras biológicas. A amostragem abrangeu tanto cães sintomáticos quanto assintomáticos que chegaram ao abrigo, com as coletas realizadas entre fevereiro e agosto de 2024.

Os participantes do estudo foram submetidos à triagem pelo teste imunocromatográfico de plataforma dupla (teste rápido DPP; Bio-Manguinhos/Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil) a fim de determinar a presença de anticorpos contra *Leishmania* spp. Resultados positivos foram confirmados através do ensaio imunoenzimático (EIA) para LVC (EIE-LVC; Bio-Manguinhos/Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil), realizado pelo Laboratório Central de Saúde Pública de Mato Grosso (LACEN-MT).

As amostras de sangue total dos animais reagentes foram submetidas a análises hematológicas e bioquímicas, sendo hemograma, com avaliação de hemácias, leucócitos e plaquetas, através do analisador hematológico Sysmex pocH-100iV Diff® (Sysmex Corporation, Wakohama-Kaigandori, Chu-ku, Japan); e a avaliação bioquímica compreendeu a dosagem de alanina aminotransferase (ALT) e creatinina, através do analisador bioquímico BIO - 200® (BIOPLUS, Barueri, São Paulo, Brasil).

#### *Análises estatísticas*

A estatística descritiva foi aplicada para resumir os dados por meio da construção de tabelas de frequência para as variáveis categóricas. Para facilitar a comparação das taxas de soropositividade e a concordância entre os métodos diagnósticos, os dados do abrigo foram analisados utilizando o teste exato de Fisher. Além disso, o teste  $\chi^2$  de Pearson foi empregado para verificar a associação entre variáveis categóricas e a ocorrência de LVC. Em todos os testes, o nível de significância estatística foi fixado em 95%. Os dados foram organizados em planilhas do software Microsoft Office Excel 365® e, em seguida, importados e analisados no software GraphPad Prism 8®.

Os critérios de inclusão dos animais do abrigo foram: qualquer cão, independentemente da raça, idade ou estado clínico já pertencente ao abrigo ou que deu entrada a partir de um resgate, não tendo um responsável legal, além do abrigo. Como critérios de exclusão, as amostras não foram coletadas de cães aos quais não foi possível realizar a contenção física ou química, colocando em risco a sua integridade e dos colaboradores envolvidos.

#### *Aspectos éticos*

Este estudo foi aprovado pela Comissão Ética de Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT) sob o número do Parecer: 23108.022539/2023-11 com autorização para o uso de animais nesta pesquisa e ainda no Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), com autorização de pesquisa com finalidade científica em unidade de conservação Federal; ambos em consonância com todos os dispositivos legais. Ainda, foi concedida a autorização para o desenvolvimento da pesquisa, dos responsáveis pelo abrigo e do proprietário da propriedade privada onde o abrigo está localizado, através do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

### **Resultados e discussão**

Um total de 200 animais foi testado, incluindo residentes do abrigo, cães resgatados em resposta a denúncias de maus-tratos ou pedidos de ajuda devido a condições precárias de saúde. No teste de triagem para leishmaniose visceral canina, utilizando o teste imunocromatográfico de plataforma dupla (teste rápido DPP; Bio-Manguinhos/Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil), 26 animais apresentaram resultado positivo, enquanto 174 tiveram resultado negativo, correspondendo a 13% e 87%, respectivamente.

Em estudo de frequência de anticorpos anti *L. infantum* por meio do Teste Rápido DPP® em 201 cães, no município de Sinop-MT, observou-se sete animais (3,48%) positivos e 194 (96,52%) negativos (LOPES; BONFIM; SANTI; BERNDT *et al.*, 2020). Apresentando

divergência significativa para o estudo em questão, apesar de ambos serem desenvolvidos no mesmo município. Tal fato pode ser explicado pelo estudo em questão atuar apenas em animais de abrigo. Uma vez que deve ser considerada a presença de vetores flebotomíneos capazes de transmitir *Leishmania* nas proximidades de abrigos, favorecendo a disseminação de doenças (DA SILVA; SILVA; AGUIAR; NASCIMENTO *et al.*, 2024). Além da atuação do abrigo no resgate de animais, muitas vezes já em condições adversas de saúde, com o sistema imune debilitado, sujeitos anteriormente a diversas doenças infectocontagiosas, como a leishmaniose visceral canina.

No município de Sinop-MT é descrita a ocorrência do vetor flebotomíneo, sendo oito espécies de importância médica, principalmente em áreas de preservação permanente; também em bairros com fragmentos florestais (THIES; BRONZONI; ESPINOSA; SOUZA *et al.*, 2016), sendo essa uma característica do local em que o abrigo em questão está inserido, o que pode estar atrelado a elevada soroprevalência encontrada (13%).

Foi relatada uma positividade de 43% para *L. infantum* em um abrigo localizado no estado do Rio Grande do Norte, Brasil, onde 98 animais foram testados para a enfermidade, utilizando do método de diagnóstico sorológico ELISA (DA SILVA; SILVA; AGUIAR; NASCIMENTO *et al.*, 2024). Já em um abrigo no município de Lavras, Minas Gerais, Brasil, foram testados 324 animais e encontrada uma prevalência de 5,56% através do método diagnóstico molecular, o PCR (SIRIAS, 2021). Enquanto em abrigos do Estado de Sergipe, 144 animais foram testados através do TR DPP® e encontrada a soroprevalência de 49,30% (SOARES; DE JESUS; OLIVEIRA; BARATA *et al.*, 2024). A prevalência encontrada nesse estudo difere dos demais, sendo influenciada por questões referente a região estudada, logo, sofre variação de acordo com o local, distribuição do vetor e agente etiológico e ainda pelo método de diagnóstico empregado em cada estudo.

As capitais dos estados supracitados obtiveram classificação de risco intenso para Leishmaniose Visceral, sendo Sergipe e Rio Grande do Norte mais recentemente, no período de 2018 – 2020 e Minas Gerais, de 2013 – 2015. Enquanto na região Centro-Oeste, somente foram classificados como risco muito intenso os municípios de Rio Verde de Mato Grosso (MS), de 2016-2018 e Campo Grande (MS), de 2016-2018 e 2018-2020 (NINA; CALDAS; SOEIRO; FERREIRA *et al.*, 2023). No Brasil, grandes variações são observadas nos valores de soroprevalência de LVC, tendo sido encontrados valores variando desde 4 a 75% relacionado a condições geográficas, climáticas e aspectos sociais de cada região acometida (COSTA; BLANGIARDO; RODAS; NUNES *et al.*, 2018). Neste estudo os resultados encontrados se se

enquadram dentro da variabilidade e estão dentro do esperado, apesar do município não ser considerado de risco, acredita-se que a soroprevalência encontrada seja devido a região possuir condições favoráveis para o desenvolvimento da doença, além do método diagnóstico empregado.

As amostras positivas (26) no TR DPP® para LVC foram encaminhadas ao Laboratório Central de Saúde pública de Mato Grosso (LACEN-MT) para a realização do teste sorológico EIA. Dentre os resultados obtidos pelo EIA, uma amostra apresentou resultado positivo e 25 resultados negativo, correspondendo a 3,84% e 96,15%, respectivamente. Realizando-se a comparação entre o resultado dos testes sorológicos utilizados, foi encontrado um valor de  $p=0,3299$ , desta forma aceitando-se a hipótese nula, de que não há diferença estatística entre os testes e que a diferença de resultados observada pode ser atribuída ao acaso, apesar de 26 amostras serem positivas no DPP® e somente uma positiva no EIA.

Em estudo de validação do teste DPP® para CVL (Bio-Manguinhos/Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil), foi observado em cães clinicamente saudáveis uma sensibilidade de 89% e especificidade de 70%, apresentando vantagens como rapidez, simplicidade e praticidade (FIGUEIREDO; VASCONCELOS; MADEIRA; MENEZES *et al.*, 2018). Devido vantagens apresentadas o teste em questão foi escolhido para uso neste estudo.

Os critérios oficiais para o diagnóstico de Leishmaniose Visceral Canina (LVC) no Brasil passaram a se basear na utilização da plataforma de teste imunocromatográfico de triagem DPP®, que emprega proteínas recombinantes específicas (rK26 e rK39). Este teste é seguido pelo ELISA indireto, que atua como teste confirmatório (BRASIL, 2011). Apesar de sua praticidade, o DPP® apresenta uma sensibilidade questionável para detectar animais assintomáticos. Contudo, é o teste de triagem recomendado pelo Ministério da Saúde, com confirmação subsequente (DA SILVA, 2023). Diante disso, a taxa de positividade encontrada neste estudo (13%), no teste DPP® pode se encontrar subestimada, uma vez que os animais considerados soronegativos eram principalmente assintomáticos.

Os testes sorológicos, como ELISA e RIFI, apresentam limitações, especialmente no que se refere à sensibilidade. Em cães assintomáticos e/ou em fase inicial de infecção, a resposta a esses exames é menos sensível devido ao baixo grau de parasitismo, resultando em níveis reduzidos de anticorpos anti-Leishmania (DE CARVALHO; RIBOLDI; BELLO; RAMOS *et al.*, 2018), não superando em 1,2 vezes o *Cut-off*. Sendo que neste estudo, dos 26 cães positivos no TR DPP®, 12 eram assintomáticos, ou seja, 46,15% e diversos animais sintomáticos

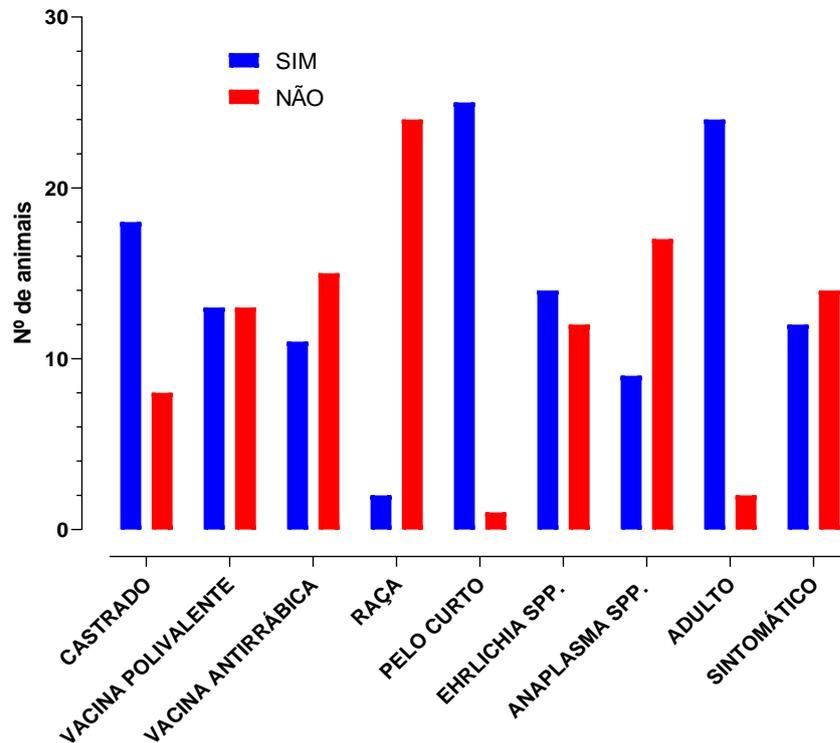
apresentavam sintomas inespecíficos, tais fatos aliado a sensibilidade questionável podem explicar a elevada ocorrência de resultados negativos no EIA (25).

Um estudo realizado no município de Sinop-MT revelou uma positividade em 20 amostras na sorologia por DPP® (6,94%) e em 9 amostras pelo teste ELISA (3,13%). Quando analisadas por PCR de amostras de sangue, a positividade foi observada em 83 amostras (28,82%). No entanto, ao considerar a combinação de DPP® positivo com confirmação pelo ELISA positivo, conforme recomendado pelo Ministério da Saúde, apenas uma amostra resultou positiva, correspondendo a 0,35% (THIES, 2017). Tal fato se assemelha ao resultado obtido neste estudo, onde utilizando o protocolo do Ministério da saúde, apenas uma amostra foi positiva em ambos os testes DPP® e EIA (3,84%). Já foi descrita anteriormente uma subestimação da positividade proporcionada pelos testes sorológicos no município de desenvolvimento deste estudo, considerado silencioso para LV e LVC (THIES, 2017). Todavia, não foi possível a aplicação de testes moleculares neste estudo para realizar a comparação entre os métodos diagnósticos, ficando os resultados condicionados aos métodos sorológicos, levantando novos questionamentos a respeito dos métodos preconizados pelo Ministério da Saúde, com a hipótese de existência de resultados falsos negativos no teste confirmatório EIA ou ainda em ambos os testes.

Ainda segundo Thies (2017) os resultados de testes sorológicos que apresentem limitações de sensibilidade e especificidade podem interferir na confiabilidade dos resultados, fornecendo taxas de positividade equivocadas, impactando no conhecimento da gravidade da positividade da doença na região estudada. Apesar do ELISA permitir a detecção de baixos títulos de anticorpos, a técnica é pouco precisa na detecção de casos ainda subclínicos ou assintomáticos. Além disso, 5 a 10% dos cães infectados não desenvolvem níveis de anticorpos detectáveis ou podem ainda não terem realizado soroconversão, ocasionando subestimação da positividade. Tendo em vista a limitação descrita para o método sorológico utilizado como teste confirmatório (EIA), foram consideradas para as análises estatísticas clínico epidemiológica n=26 amostras positivas em pelo menos um teste, sendo este o TR DPP®.

Em relação ao perfil clínico epidemiológico foi verificado que dos 26 cães positivos, 18 eram castrados, 13 se encontravam com protocolo vacinal com vacina polivalente atualizado, 11 possuíam vacina antirrábica, 2 eram de raça definida, 25 possuíam pelo curto, 14 eram positivos para *Ehrlichia* spp., 9 positivos para *Anaplasma* spp., 24 eram adultos e 12 assintomáticos. Para tais características foi observado um valor de  $p < 0,0001$ , conforme Figura 1; inferindo-se que as características clínico-epidemiológicas avaliadas são significativas para

a ocorrência de LVC, ou seja, há uma forte evidência estatística de que essas características estão associadas à presença de LVC nos cães estudados. Todavia, não é possível determinar quais constituem um fator de risco.



**Figura 1.** Perfil clínico epidemiológico de casos positivos para Leishmaniose Visceral Canina no teste DPP;  $p < <0,0001$ , qui quadrado.

No que diz respeito à esterilização, é fundamental promover ações educativas que alertem e conscientizem sobre a importância da esterilização cirúrgica, o bem-estar animal e a responsabilidade na posse de animais de estimação. Essas iniciativas são essenciais para mitigar problemas de saúde pública, especialmente no controle de doenças infecciosas, como a LV (DA SILVA; SILVA; AGUIAR; NASCIMENTO *et al.*, 2024). Foi verificado um elevado número de animais castrados neste estudo, este fato se deve as premissas de controle populacional do abrigo onde foi desenvolvido, sendo que os animais já residentes no abrigo, são todos esterilizados e animais resgatados tem sua saúde reestabelecida e são encaminhados para a esterilização cirúrgica.

Foi observada uma maior prevalência da doença em cães sem raça definida, o que pode estar associado ao fato desses animais estarem mais espalhados espacialmente nas ruas, em peridomicílios e em áreas rurais, o que os torna mais suscetíveis à infecção (SOARES; DE JESUS; OLIVEIRA; BARATA *et al.*, 2024). Tais cães nas ruas estão mais susceptíveis a

acidentes e posterior resgate pelo abrigo, constituindo numerosamente os residentes do abrigo, com exceções de poucos animais de raça definida estudados.

Os cães de pelagem curta são os mais afetados pela Leishmaniose, um fato que pode ser explicado pela influência de fatores genéticos, como o gene FGF5, responsável pela determinação do comprimento do pelo. Devido a essa característica, esses animais possuem uma barreira mecânica reduzida, o que deixa a pele mais exposta e facilita o acesso do flebotomíneo, crucial para a transmissão da doença. Há ainda uma correlação entre o comprimento do pelo e a atração pelo vetor, uma vez que cães de pelo curto liberam uma quantidade maior de CO<sub>2</sub> em comparação aos de pelo longo, tornando-os mais atrativos para o vetor (SOARES; DE JESUS; OLIVEIRA; BARATA *et al.*, 2024). Outros estudos também trazem como fator de risco a pelagem média, além da curta (CHIYO; DOS SANTOS; DE SOUZA; RIVAS *et al.*, 2023). Condizente com resultados encontrados, pois neste estudo os cães avaliados eram predominantemente de pelo curto, uma característica comum dos cães do abrigo, o que tendência a ocorrência, bem como dos animais positivos, com exceção de apenas um cão de pelagem média. Além disso, o abrigo nesse contexto, se torna um local de aglomerados de cães com menor barreira mecânica liberando CO<sub>2</sub>, sendo um local atrativo para o flebotomíneo.

Alguns autores apontam uma maior soropositividade em cães jovens, o que é frequentemente associado à falta de imunidade adquirida e à reposição de cães eutanasiados na população, permitindo a entrada de indivíduos mais jovens e suscetíveis à infecção. No entanto, também há registros de maior prevalência da doença em cães adultos, o que pode ser explicado pelo longo período de latência da infecção. Nesse cenário, é possível que esses cães tenham contraído a infecção ainda filhotes, mas só manifestem resultados positivos nos testes diagnósticos na fase adulta (COSTA; BLANGIARDO; RODAS; NUNES *et al.*, 2018). Neste estudo foram encontrados 24 cães (92,30%) adultos (maiores de 12 meses de idade) positivos, contrastando com a primeira hipótese e em consonância com a segunda. Além disso, o resultado obtido pode ser explicado pelo tempo de permanência dos animais positivos no abrigo, sendo que muitos animais já eram residentes do abrigo e passaram toda a vida após o resgate neste estabelecimento, se encontrando na fase adulta no momento do diagnóstico.

Outro fator para a maior prevalência em cães adultos se deve a estes animais estarem a mais tempo expostos ao risco de repasto sanguíneo pelo flebotomíneo (SOARES; DE JESUS; OLIVEIRA; BARATA *et al.*, 2024), no ambiente do abrigo. Além disso, pode estar associado a predominância da adoção de cães jovens, em relação aos idosos, contribuindo para este

resultado. Não foi possível tratar da faixa etária de forma mais detalhada, pois ao chegarem no abrigo os animais recebem uma idade estimada, muitas vezes não condizente com a realidade.

É importante destacar que já existem alguns estudos onde não foi observada correlação entre idade e LVC (COSTA; BLANGIARDO; RODAS; NUNES *et al.*, 2018); (DA SILVA, 2020). Bem como a ausência de associação com sintomatologia, esterilização (DA SILVA, 2020), raça e tamanho do pelo (CARVALHO; LUZ; RODRIGUES; DIAS *et al.*, 2019). Apesar dos resultados encontrados sugerirem relação com a ocorrência da doença.

Diversos ectoparasitas, como piolhos, pulgas, ácaros e carrapatos, infestam cães em diferentes biomas e condições climáticas brasileiras. Já foi descrita a ocorrência de *Rhipicephalus sanguineus* coletados de cães no Brasil naturalmente infectados com *L. infantum*, sugerindo um papel potencial como hospedeiro secundário de LVC. Além disso, sendo o principal vetor de bactérias gram-negativas intracelulares obrigatórias do gênero *Ehrlichia*. No que se refere à *E. canis*, um estudo revelou a presença dessa bactéria em coinfeções, não apenas com *Leishmania spp.*, mas também com *Babesia spp.* ou *A. platys*. Autores descrevem prevalências de *E. canis* de 20,9%, 44,7%, 16,0% e 5,7% no Brasil, de acordo com a região (ESTEVAM, 2023). No presente estudo, foi encontrada uma prevalência de 53,84% de *E. canis* em coinfeção com *Leishmania spp.* e 34,61% de coinfeção envolvendo *Leishmania spp.* e *A. platys*, fato que demonstra relevância. Por se tratar de animais de abrigo, que vivem em condições de superpopulação, são recorrentes as administrações de ectoparasitas em todos os animais residentes, todavia, ainda são encontrados carrapatos rotineiramente, o que pode explicar a ocorrência das doenças supracitadas em animais soropositivos para LVC.

Cães infectados com *E. canis* têm 12,4 vezes mais chance de desenvolver Leishmaniose Visceral Canina (LVC) clínica em comparação com cães não infectados por *E. canis*. A presença de *Ehrlichia spp.* nos macrófagos pode inibir significativamente a resposta imune inata do tipo Th1, o que favorece a sobrevivência de *L. infantum* dentro das células hospedeiras coinfectadas (ESTEVAM, 2023). Neste contexto, a prevalência elevada de coinfeções encontradas no estudo, pode criar um ambiente imunológico mais favorável para a sobrevivência e multiplicação de *L. infantum*, ocorrendo a progressão da doença, fato importante para o monitoramento dos casos positivos quanto a progressão clínica da LVC.

A prevalência de *A. platys* varia conforme a região e é influenciada pelo método de diagnóstico utilizado. Relatos indicam prevalências de 15,46% no Mato Grosso do Sul, 14,07% em Porto Alegre, 22,8% em Minas Gerais e 18,5% em Belo Horizonte (ESTEVAM, 2023). No presente estudo, foi encontrada uma prevalência de 34,61%, superior à descrita em outras

regiões. Esse resultado pode ser explicado pelo fato de *Anaplasma platys* e *E. canis* geralmente ocorrerem nas mesmas áreas, com os mesmos cães frequentemente apresentando evidências de exposição ou infecção por ambos os patógenos, o que acompanha a maior prevalência de *E. canis* observada neste estudo. A infecção por *A. platys* também afeta a manutenção da infecção por *L. infantum*, pois reduz a função dos neutrófilos, células responsáveis pela eliminação de patógenos intracelulares, facilitando assim a infecção (ESTEVAM, 2023).

No que se refere ao sexo dos animais positivos, este fator é comumente associado à LVC (SOARES; DE JESUS; OLIVEIRA; BARATA *et al.*, 2024). Neste estudo foi observado que 50% (13/26) dos casos positivos se referiam a cães machos e 50% a fêmeas, com valor de  $p > 0,9999$ . O resultado apresentado indica que, neste estudo específico, a proporção de cães machos e fêmeas positivos para Leishmaniose Visceral Canina (LVC) foi quase equivalente. A análise estatística sugere que não houve diferença estatisticamente significativa entre os sexos dos cães infectados.

Acredita-se que as fêmeas podem ser mais susceptíveis a LVC devido alterações hormonais e imunológicas que ocorrem durante a fase do ciclo estral e posteriormente durante a gestação (SOARES; DE JESUS; OLIVEIRA; BARATA *et al.*, 2024). Entretanto, os resultados deste estudo não confirmaram essa relação, além disso não foi encontrada associação significativa em diversos outros estudos, corroborando para a falta de associação entre sexo e infecção, reforçando que essa variável pode não ser determinante para o risco de infecção por LVC (CARVALHO; LUZ; RODRIGUES; DIAS *et al.*, 2019; COSTA; BLANGIARDO; RODAS; NUNES *et al.*, 2018); (DA SILVA, 2020);. Ademais, apenas três (3/13) fêmeas soropositivas não eram esterilizadas, não havendo possível influência do fator ciclo estral e gestação na maioria dos animais.

Durante a análise hematológica dos animais soropositivos para LVC, diversas alterações foram encontradas, como anemia em 53,84% dos casos, trombocitopenia (38,46%), eosinofilia (38,46%) e hiperproteinemia (38,46%). Todas as alterações foram relacionadas com a LVC e obteve-se um valor de  $p < 0,0001$ ; demonstrando que essas alterações são altamente significativas e, portanto, não ocorreram por acaso. Isso reforça a associação direta entre a infecção por LVC e as disfunções hematológicas observadas.

Na leishmaniose visceral, a anemia pode resultar em alterações eritrocitárias significativas, que provavelmente afetam a adesão e as propriedades reológicas dessas células (SILVA; COTRIM; CONCEICAO; MARINS *et al.*, 2018). Um estudo demonstrou uma redução no número de eritrócitos, hematócrito e plaquetas em cães com leishmaniose visceral,

sugerindo a presença de anemia leve e a possível presença de imunoglobulinas ligadas às plaquetas (SILVA; COTRIM; CONCEICAO; MARINS *et al.*, 2018). Destaca-se como alterações laboratoriais comuns a anemia não regenerativa, variando de leve a grave, e/ou anemia hemolítica imunomediada, trombocitopatias imunomediadas, trombocitose ou trombocitopenia (SOLANO-GALLEGO; MIRO; KOUTINAS; CARDOSO *et al.*, 2011). Tais alterações envolvendo diferentes graus de anemia foram observadas de forma recorrente (14/26), condizente com estudos, possivelmente em decorrência das disfunções hematológicas ocasionadas pela *L. infantum*, bem como a trombocitopenia (10/26) esteve presente.

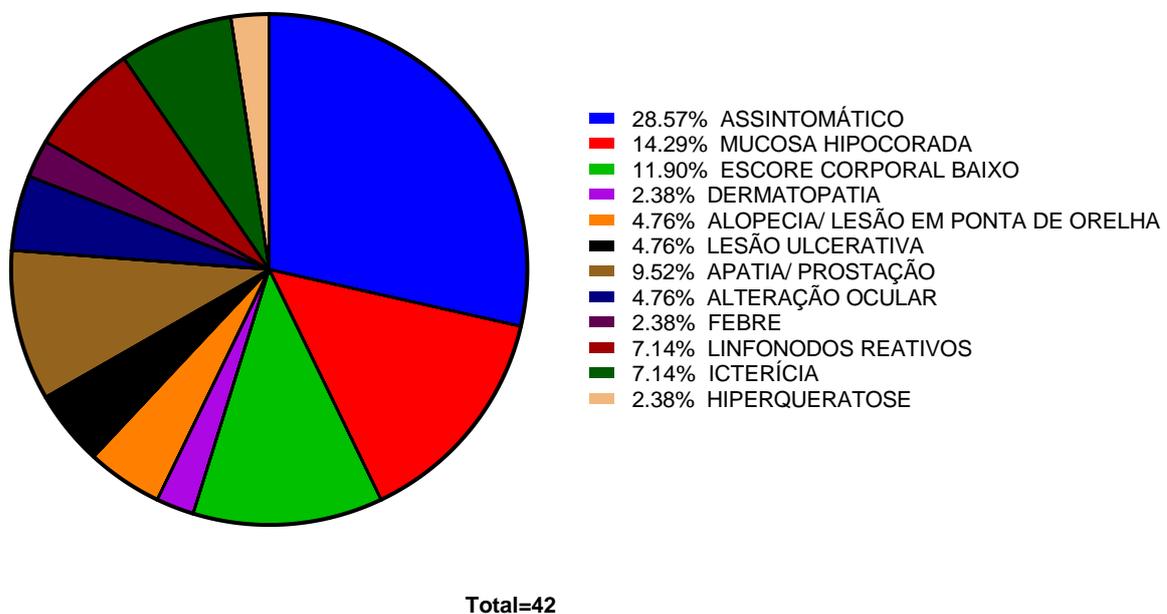
A eritropoiese ineficaz pode ser decorrente do caráter crônico da doença, perda sanguínea ou lise eritrocitária mediada pela produção de autoanticorpos, resultando no sequestro esplênico. Além disso, a trombocitopenia observada nos animais infectados pode estar relacionada ao estágio clínico da doença e à presença de anticorpos antiplaquetários IgM e IgG (SILVA; COTRIM; CONCEICAO; MARINS *et al.*, 2018). Podendo a anemia e trombocitopenia encontradas ainda estarem associadas a presença autoanticorpos, o que também condiz com a hiperproteinemia observada em 38,46% dos casos. Ademais, é válido ressaltar que havia animais positivos para LVC coinfectados com hemoparasitoses, com potencial de ocasionar tais alterações hematológicas observadas simultaneamente.

Um estudo relatou que cães infectados por *L. infantum* apresentaram anemia normocítica normocrômica, uma condição frequentemente associada a doenças infecciosas crônicas que envolvem depressão da medula óssea, além de hiperproteinemia e hipergamaglobulinemia (DA SILVA; SILVA; AGUIAR; NASCIMENTO *et al.*, 2024). Logo, os achados deste estudo estão de acordo com as alterações típicas esperadas em casos de Leishmaniose Visceral Canina (LVC). Outras alterações frequentes incluem hiperglobulinemia e hipoalbuminemia, elevação nos níveis de dimetilarginina simétrica (SDMA), ureia e creatinina e alterações hepática, embora com menor frequência (BRASILEISH, 2018). Neste estudo não foi possível a realização de uma avaliação hematológica e bioquímica mais aprofundada, apesar de sua importância clínica, contudo, também foi observada hiperglobulinemia em 10/26 casos, podendo estar associada a produção de anticorpos e em menor ocorrência também foi observada a elevação de creatinina e ALT, em 1/26 e 5/26 casos, respectivamente.

A eosinofilia está frequentemente associada a funções anti-inflamatórias, distúrbios de hipersensibilidade provocados por prurido decorrente de picadas de ectoparasitas e infecções por helmintos. Nos abrigos, o controle eficaz de ectoparasitas e endoparasitas é um grande

desafio, o que certamente contribui para a ocorrência de eosinofilia (DA SILVA, 2020). Esse fato pode explicar a presença de eosinofilia em 10 dos 26 casos observados. Além disso, essa alteração é frequentemente detectada nos animais do abrigo em questão, independentemente da disfunção que apresentem.

Por fim foram verificados os sinais clínicos apresentados pelos animais soropositivos para LVC, dentre os quais houve predomínio de cães assintomáticos 12/26, seguido por cães apresentando mucosas hipocoradas 6/26, escore corporal baixo 5/26, apatia/prostração 4/26 e demais em menor frequência. A análise estatística revelou um valor de  $p=0,0163$ , conforme Figura 2, indicando que há diferença estatística significativa entre os diferentes sinais clínicos apresentados pelos animais, sugerindo que a distribuição dos sintomas não ocorre de forma aleatória, mas sim com uma frequência estatisticamente relevante, destacando o predomínio de cães assintomáticos.



**Figura 2.** Alterações clínicas em casos positivos de Leishmaniose Visceral Canina no teste DPP;  $p=0,0163$ , qui quadrado.

Há relatos de infecção assintomática por *Leishmania* spp. com até 25% de soroprevalência em cães domésticos (DA SILVA; SILVA; AGUIAR; NASCIMENTO *et al.*, 2024). Neste estudo foi verificada uma infecção assintomática em 28,57% dos casos, muito próximo do valor encontrado em estudos. Já tendo sido encontradas prevalências ainda maiores, de 66% de infecção assintomática (CARVALHO; LUZ; RODRIGUES; DIAS *et al.*, 2019). Esses resultados, juntamente com os deste estudo, destacam a relevância desse fato para a epidemiologia da leishmaniose visceral, já que cães assintomáticos comprovadamente têm a

capacidade de infectar flebotomíneos (CARVALHO; LUZ; RODRIGUES; DIAS *et al.*, 2019), uma vez que podem apresentar parasitismo cutâneo mesmo na ausência de sinais clínicos (DA SILVA; SILVA; AGUIAR; NASCIMENTO *et al.*, 2024). Reforçado a importância da realização de inquéritos soropidemiológicos mesmo em cães assintomáticos.

As lesões ocasionadas pela *Leishmania spp.* podem envolver qualquer órgão e atingir todos os tecidos e fluidos orgânicos, uma vez que se caracteriza como uma doença crônica e generalizada (BRASILEISH, 2018). São descritos como sinais clínicos comuns a linfadenopatia, úlceras cutâneas, ulceração em orelhas, descamação, onicogribose (SILVA; COTRIM; CONCEICAO; MARINS *et al.*, 2018), conjuntivite, (DA SILVA; SILVA; AGUIAR; NASCIMENTO *et al.*, 2024), emagrecimento, letargia, palidez de mucosas, esplenomegalia, poliúria e polidipsia, febre, vômito e diarreia, dermatites, blefarites, epistaxe, dentre outros (BRASILEISH, 2018). Apesar de em menor frequência, diversos sinais clínicos condizentes com LVC foram observados neste estudo, estando de acordo com diversos autores e dentro do esperado para o curso clínico da doença. Sendo válido ressaltar a existência de coinfeções, possivelmente também influenciando no aparecimento de eventuais sinais clínicos observados.

### **Considerações finais**

A elevada prevalência encontrada de cães soropositivos para LVC (13%) no teste de triagem DPP® em um abrigo de animais no município de Sinop, Mato Grosso, reforça a necessidade da atuação da vigilância epidemiológica nesses locais. A discrepância entre os resultados obtidos nos testes DPP® e no teste confirmatório EIA ressalta a necessidade de aprimoramento dos protocolos diagnósticos, incluindo a incorporação de métodos moleculares, como o PCR, para aumentar a precisão dos resultados. As análises estatísticas indicaram que os fatores clínico-epidemiológicos, alterações hematológicas e sinais clínicos apresentaram associação significativa com a infecção.

### **Referências**

- ALMEIDA, A. P.; PEREIRA JUNIOR, A. M.; PAULO, P. F. M.; PINTO, A. M. M. *et al.* The spread of visceral leishmaniasis in Brazil: the first canine cases described in Ji-Parana, Rondonia, Brazil. **Rev Bras Parasitol Vet**, 30, n. 4, p. e011021, 2021.
- APAMS, **Associação Protetora dos Animais do Município de Sinop**. Disponível em: <https://apams.com.br/a-apams>. Acesso em: 26 ago. 2024
- BRACARENSE, C. B.; MESQUITA, L. d. O.; ANTUNES, L. P.; OLIVEIRA, S. d. S. *et al.* Leishmaniose visceral. **Seven Edit**, p. 36-47, 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim epidemiológico: Doenças Tropicais negligenciadas**. Brasília, DF, 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/t/tracoma/publicacoes/boletim-epidemiologico-doencas-tropicais-negligenciadas/view>. Acesso em: 30 ago. 2023

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância de Doenças Transmissíveis. **Nota Técnica Conjunta 01/2011 CGDT/CGLAB/DVIT/SVS/MS**. Brasília, DF, 2011. Disponível em: [https://crmvm.org.br/wp-content/uploads/2019/10/nota-tecnica-no.-1-2011\\_cglab\\_cgdt1\\_lvc\\_98999048.pdf](https://crmvm.org.br/wp-content/uploads/2019/10/nota-tecnica-no.-1-2011_cglab_cgdt1_lvc_98999048.pdf). Acesso em: 02 set. 2024.

BRASILEISH, Grupo de Estudos em Leishmaniose Animal. **Diretrizes Para o Diagnóstico, Estadiamento, Tratamento e Prevenção da Leishmaniose Canina, 2018**. Disponível em: [https://www.brasileish.com.br/\\_files/ugd/3079c5\\_917ad5b903ef49cb9eb2502929e88b20.pdf](https://www.brasileish.com.br/_files/ugd/3079c5_917ad5b903ef49cb9eb2502929e88b20.pdf). Acesso em: 05 set. 2024.

CAN, H.; DOSKAYA, M.; OZDEMIR, H. G.; SAHAR, E. A. *et al.* Seroprevalence of Leishmania infection and molecular detection of Leishmania tropica and Leishmania infantum in stray cats of Izmir, Turkey. **Exp Parasitol**, 167, p. 109-114, Aug 2016.

CARVALHO, A. G.; LUZ, J. G. G.; RODRIGUES, L. D.; DIAS, J. V. L. *et al.* Factors associated with Leishmania spp. infection in domestic dogs from an emerging area of high endemicity for visceral leishmaniasis in Central-Western Brazil. **Res Vet Sci**, 125, p. 205-211, Aug 2019.

CHIYO, L.; DOS SANTOS, A. G.; DE SOUZA, A. B.; RIVAS, A. V. *et al.* Cross-sectional spatial and epidemiological analysis of canine visceral leishmaniasis cases in the triple border region, Brazil, Argentina and Paraguay, between 2015 and 2020. **Acta Trop**, 239, p. 106811, Mar 2023.

DA SILVA, A. S.; SILVA, M. M. d. M.; AGUIAR, C. d. O. M.; NASCIMENTO, P. R. P. *et al.* Challenges of animals shelters in caring for dogs infected with Leishmania and other pathogens. **Vet Parasitol Reg Stud Reports**, 49, p. 100988, Apr 2024.

DA SILVA, A. S. **Estudo Clínico-Epidemiológico da Infecção por Leishmania sp em um Abrigo de Cães em Área Endêmica de Leishmaniose Visceral na Região Metropolitana de Natal, Rio Grande do Norte**. Tese de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2023.

DA SILVA, A. T. **Diagnóstico Laboratorial de Leishmania spp. em Cães Oriundos de Abrigos da Região Metropolitana do Estado do Rio de Janeiro**. Tese de Doutorado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2020.

DANTAS-TORRES, F.; MIRO, G.; BANETH, G.; BOURDEAU, P. *et al.* Canine Leishmaniasis Control in the Context of One Health. **Emerg Infect Dis**, 25, n. 12, p. 1-4, Dec 2019.

DE CARVALHO, F. L. N.; RIBOLDI, E. O.; BELLO, G. L.; RAMOS, R. R. *et al.* Canine visceral leishmaniasis diagnosis: a comparative performance of serological and molecular tests in symptomatic and asymptomatic dogs. **Epidemiol Infect**, 146, n. 5, p. 571-576, Apr 2018.

DE MASSIS, F.; IPPOLITI, C.; SIMONA, I.; TITTARELLI, M. *et al.* Canine Leishmaniasis: Serological Results in Private and Kennel Dogs Tested over a Six-Year Period (2009-2014) in Abruzzo and Molise Regions, Italy. **Microorg**, 8, n. 12, Dec 1 2020.

ESTEVAM, L. G. T. M. **Leishmaniose Visceral Canina: Aspectos Epidemiológicos em Ambientes com Elevado Número de Animais e o Estudo de Ctenocephalides felis felis no Ciclo de Leishmania infantum**. (“Registros relacionados: Leishmania sp. em animais silvestres de ...”) Tese de Doutorado. Fundação Oswaldo Cruz, 2023.

ESTEVAM, L.; VELOSO, L. B.; SILVA, G. G.; MORI, C. C. *et al.* Leishmania infantum infection rate in dogs housed in open-admission shelters is higher than of domiciled dogs in an

- endemic area of canine visceral leishmaniasis. Epidemiological implications. **Acta Trop**, 232, p. 106492, Aug 2022.
- FREITAS, A. Leishmaniose visceral canina: Revisão. **Pubvet**, 16, n. 10, 2022.
- IBGE, **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, 2023. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mt/sinop/panorama>. Acesso em: 15 ago. 2024.
- KMETIUK, L. B.; DE CAMPOS, M. P.; BACH, R. V. W.; BRANDAO, A. P. D. *et al.* Serosurvey of anti-Leishmania (Leishmania) infantum antibodies in hunting dogs and hunters in Brazil. **Vet World**, 14, n. 10, p. 2735-2738, Oct 2021.
- LOPES, L.; BONFIM, M.; SANTI, F.; BERNDT, T. *et al.* Frequency of dogs with anti Leishmania Chagasi antibodies by immunochromatographic assay (DPP) in the city of Sinop, Mato Grosso, Brazil. **Scient Electron Arch**, 13, n. 11, p. 97-100, 2020.
- MENEGATTI, J. A.; DIAS, A. Epidemiology of visceral leishmaniasis in municipalities of Mato Grosso and the performance of surveillance activities: an updated investigation. **Rev Bras Parasitol Vet**, 33, n. 1, p. e015623, 2024.
- NINA, L. N. d. S.; CALDAS, A. d. J. M.; SOEIRO, V. M. d. S.; FERREIRA, T. F. *et al.* Distribuição espaço-temporal da leishmaniose visceral no Brasil no período de 2007 a 2020. **Revist Paname de Salu Públic**, 47, p. e160, 2023.
- RIBEIRO, M. P.; ALESSIO JUNIOR, L. E.; ALESSIO, A. M. Perfil epidemiológico da leishmaniose visceral humana no estado do Mato Grosso, Brasil-2010 a 2020. **Resear, Societ and Develop**, 11, n. 12, p. e68111234114-e68111234114, 2022.
- RIBEIRO, R. R.; MICHALICK, M. S. M.; DA SILVA, M. E.; DOS SANTOS, C. C. P. *et al.* Canine Leishmaniasis: An Overview of the Current Status and Strategies for Control. **Biomed Res Int**, 2018, p. 3296893, 2018.
- RODRIGUES, C. M. Animal accumulators from the perspective of health promotion and surveillance. **ABCS Heal Sci**, 44, n. 3, 2019.
- ROMBOLA, P.; BARLOZZARI, G.; CARVELLI, A.; SCARPULLA, M. *et al.* Seroprevalence and risk factors associated with exposure to Leishmania infantum in dogs, in an endemic Mediterranean region. **PLoS One**, 16, n. 1, p. e0244923, 2021.
- SILVA, J. N. D.; COTRIM, A. C.; CONCEICAO, L.; MARINS, C. M. F. *et al.* Immunohaematological and rheological parameters in canine visceral leishmaniasis. **Rev Bras Parasitol Vet**, 27, n. 2, p. 211-217, Apr-Jun 2018.
- SIRIAS, I. D. P. **Epidemiologia da Leishmaniose Canina em Cães de um Abrigo no Município de Lavras, Minas Gerais**. Tese de Mestrado. Universidade Federal de Lavras, 2021.
- SOARES, M. E.; DE JESUS, J. V.; OLIVEIRA, M. R.; BARATA, C. V. *et al.* Análise espacial e epidemiológica da leishmaniose canina em animais mantidos em abrigos no leste e sertão do estado de Sergipe, Brasil. **Braz Jour of Animal Environ Resear**, 7, n. 2, p. e69792-e69792, 2024.
- SOLANO-GALLEGO, L.; MIRO, G.; KOUTINAS, A.; CARDOSO, L. *et al.* LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. **Parasit Vectors**, 4, p. 86, May 20 2011.
- THIES, S. F. **Aspectos da Ecologia de Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em Área de Ocorrência de Leishmaniose Visceral Canina: Sinop, Mato Grosso**. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Mato Grosso, 2017.
- THIES, S. F.; BRONZONI, R. V.; ESPINOSA, M. M.; SOUZA, C. O. *et al.* Frequency and diversity of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in Sinop, State of Mato Grosso, Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop**, 49, n. 5, p. 544-552, Sep-Oct 2016.
- WHO. World Health Organization. **Ending the neglect to attain the Sustainable Development Goals: a road map for neglected tropical diseases 2021–2030**. Geneva, 2020. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240010352>. Acesso em: 01 set. 2023