

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

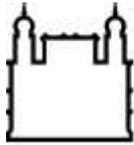
**MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO OSWALDO CRUZ**

Mestrado do Programa de Pós Graduação *Stricto Sensu* em Medicina Tropical

**LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA NO MUNICÍPIO DE PEDRO
II, PIAUÍ: AVALIAÇÃO DA TESTAGEM SOROLÓGICA E DO
PROGRAMA DE CONTROLE.**

ROBERTO COÊLHO DE FARIAS

Teresina
Setembro de 2021



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ
Programa de Pós Graduação em Medicina Tropical

ROBERTO COÊLHO DE FARIAS

Leishmaniose Visceral Canina no município de Pedro II, Piauí: avaliação da
testagem sorológica e do programa de controle.

Dissertação apresentada ao Instituto
Oswaldo Cruz como parte dos
requisitos para obtenção do título de
Mestre em Medicina Tropical.

Orientadores: Prof. Dr. Regis Bernardo Brandim Gomes
Prof. Dr. Guilherme Loureiro Werneck

Teresina
Setembro de 2021

Farias, Roberto Coêlho de .

Leishmaniose visceral canina no município de Pedro II, Piauí: avaliação da testagem sorológica e do programa de controle / Roberto Coêlho de Farias. - Teresina, 2021.

85 f.; il.

Dissertação (Mestrado) - Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2021.

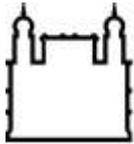
Orientador: Régis Bernardo Brandim Gomes.

Co-orientador: Guilherme Loureiro Werneck.

Bibliografia: f. 54-71

1. Município de Pedro II. 2. Mesoregião Centro-Norte do Piauí. 3. *Leishmania infantum*. I. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da Biblioteca de Manguinhos/Icict/Fiocruz com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob a responsabilidade de Igor Falce Dias de Lima - CRB-7/6930.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ
Programa de Pós Graduação em Medicina Tropical

AUTOR: ROBERTO COÊLHO DE FARIAS

**Leishmaniose Visceral Canina no município de Pedro II, Piauí:
Avaliação da testagem sorológica e do programa de controle.**

**ORIENTADORES: Profº Dr. Regis Bernardo Brandim Gomes
Profº Dr. Guilherme Loureiro Werneck**

Aprovada em: 26 / 11 / 2021

EXAMINADORES:

Membro titular (Presidente da banca): Profa Dra. Nataly Araújo de Souza -
Fundação Oswaldo Cruz – Fiocruz

Membro titular: Maria do Amparo Salmito Cavalcanti–Universidade Estadual
do Piauí – UESPI

Membro titular: Simone Patrícia Carneiro de Freitas –Bolsista de Pesquisa
Fiotec da Fiocruz Piauí

Suplente: Kerla Joeline Lima Monteiro –Escritório Regional Fiocruz Piauí

Suplente: Kátia da Silva Calabrese –Fundação Oswaldo Cruz– Fiocruz

Dedico este trabalho à minha esposa Maryvelta Gomes de Moraes Farias, aos meus filhos Julia Lorena de Moraes Farias e Luís Alfredo de Moraes Farias, à minha mãe Margarida Araújo Coêlho de Farias e ao meu pai Francisco D`artagnan Carneiro de Farias (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente à Deus por ter me concebido além da vida, uma boa família, saúde e fé.

À minha família, em especial à minha esposa Maryvelta Gomes de Moraes Farias pelo apoio e compreensão. Aos meus Filhos Júlia Lorena de Moraes Farias e Luís Alfredo de Moraes Farias pela compreensão da minha ausência para cumprir a missão sagrada do trabalho e do estudo. À minha mãe Margarida Araújo Coêlho pelo exemplo e ensinamento. Ao meu Pai Francisco D'artagnan Carneiro de Farias (in memoriam) pelo apoio na minha jornada acadêmica.

Ao meu grande amigo e irmão Raimundo Leoberto Torres de Sousa que sempre me estendeu a mão amiga nas horas difíceis.

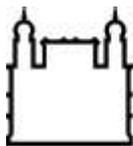
Aos amigos Rubens Galvão e Luiz Filho do Setor de Endemias da Prefeitura Municipal de Pedro II e à Secretaria Municipal de Saúde de Pedro II, sem os quais este trabalho não teria sido possível.

Aos meus amigos do Laboratório Central de Saúde Pública Dr. Costa Alvarenga (LACEN-PI) pela ajuda na organização dos dados, em especial Kelly Maria Rego da Silva, Mariana Oliveira Santos e Maria do Amparo Pimentel; Alceu Ribeiro de Sousa, Iveline Meireles Melo, Joice Lemos Feitosa, José Ribamar de Castro Junior, Judite Francisca do Nascimento, Maria do Socorro Pereira Rios, Margarida do Espírito Santo Moreira, Humberto Feitosa Pereira, Camila Sobreira, Dalva Luz, Helenita Aguiar, Hilda Carmen Fontes, Rodrigo Machado, José Frank e Aécio Flávio por tocarem o serviço na minha ausência.

Aos meus orientadores, Prof^o Dr. Regis Bernardo Brandim Gomes e Prof^o Dr. Guilherme Loureiro Werneck pelas orientações e paciência que só os grandes mestres têm. À professora Jacenir Reis dos Santos Mallet, por sua simplicidade, carisma e inteligência. À professora Elaine Ferreira do Nascimento pelo ensinamento na escrita acadêmica. À grande Kerla Joeline Lima Monteiro pelo seu bom humor e simplicidade.

Aos amigos da Fiocruz -PI Polyanna Araújo Alves Bacelar e Jéssica Pereira dos Santos pela grande ajuda e incentivo; aos meus amigos Jéssica Lais Couto Machado e Enéas Costa Junior pelas enormes dicas e apoio nas horas difíceis; Brenda Bulsara Costa Evangelista pelo seu grande coração. Ranieri Flávio Viana de Sousa, Darwin Renne Florencio Cardoso e Camilla Sobreira Soares pela ajuda e dicas importantes. Mayron Morais Almeida, Erlane Brito da Silva, Darlesson Geovani dos Santos Sousa, Mário Primo da Silva Filho e Wesllany Sousa Santana pela ajuda nos seminários e aulas. À grande amiga Maria da Conceição Lustosa de Queiroz pela sua simplicidade e sabedoria. À Isabel de Oliveira Paixão. À Aline Borges Cardoso pelo seu bom humor. Ao Escritório Regional da Fiocruz Piauí por todo o apoio necessário, especialmente Hérida Jeyne de Oliveira Amaral.

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



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Leishmaniose Visceral Canina no município de Pedro II, Piauí: avaliação da testagem sorológica e do programa de controle.

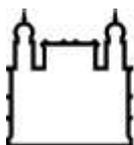
RESUMO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM MEDICINA TROPICAL

Roberto Coelho de Farias

INTRODUÇÃO: A Leishmaniose Visceral (LV) é, de acordo com a Organização Mundial de Saúde, uma doença negligenciada com distribuição global de 50.000 a 90.000 casos novos aproximadamente. No Piauí, tanto a LV humana como a canina são considerados sérios problemas de saúde pública. **OBJETIVO:** Descrever os aspectos laboratoriais, a distribuição dos casos de Leishmaniose Visceral Canina (LVC) no município de Pedro II e avaliar o programa de controle no período de 2013 a 2019. **METODOLOGIA:** Trata-se de um estudo observacional, descritivo e retrospectivo, com coleta de dados secundários obtidos pelo Setor de Endemias do município de Pedro II e dos relatórios do Programas de Controle da Leishmaniose do Piauí. **RESULTADOS:** Entre maio de 2013 a dezembro de 2019 foram realizados 4.276 testes rápidos em Pedro II para a detecção de LVC utilizando o Kit DPP. Deste total, 3.583 (83,79%) foram considerados negativos e 693 (16,21%) positivos. As 2.132 amostras foram provenientes da zona urbana, sendo 1.799 (84,38%) negativas e 333 (15,62%) positivas. Na zona rural foram realizados 2.144 testes, sendo 1.784 (83,21%) negativos e 360 (16,79%) positivos. Dos 693 positivos para DPP apenas 370 realizaram o teste confirmatório de ELISA e 323 não o realizaram devido a vários fatores. Dos 370 que realizaram, 136 (36,76%) foram considerados negativos, sendo 76 provenientes da zona urbana e 60 da zona rural; e 234 (63,24%) positivos, sendo 134 da zona urbana e 100 da zona rural. Do total de 693 positivos que foram triados pelo teste DPP, 297 (42,8%), segundo alegação dos próprios donos, teriam sido encaminhados por eles mesmos para a eutanásia após receberem o resultado do exame realizado e, por isso, não realizaram o teste confirmatório. Entre os sacrificados, 106 (35,6%) eram provenientes da zona urbana e 191 (64,4%) da rural. A eutanásia dos cães infectados realizada pelo setor de endemias de Pedro II foi efetivada apenas após o resultado comprobatório de positividade para LVC pelo teste de ELISA. Assim, dos 234 cães infectados, foram eutanasiados 233 (99,5%) dos quais 134 (57,5%) eram da zona urbana e 99 (42,5%) da rural. Entre 2013 a 2019 foram realizadas 13 borrições de piretróides na zona urbana de Pedro II e 15 na zona rural. **CONCLUSÕES:** O ano com maior porcentagem de amostras positivas identificadas pelo DPP foi o 2019, na zona rural, enquanto que para o Elisa foi o ano de 2018 na zona urbana. A eutanásia canina é uma prática realizada pelos profissionais da saúde seguindo protocolo e após confirmação pelo teste ELISA; o bairro com maior quantidade de borrições de piretróides foi a localidade Carnaúbas.

Palavras Chave: Município de Pedro II; Mesoregião Centro-Norte do Piauí; *Leishmania infantum*.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Epidemiological profile of Canine Visceral Leishmaniosis in the municipality of Pedro II,
Piauí

ABSTRACT

MASTER DISSERTATION IN TROPICAL MEDICINE

Roberto Coelho de Farias

BACKGROUND: Visceral Leishmaniasis (VL) is, according to the World Health Organization, a neglected disease with global distribution of approximately 50,000 to 90,000 new cases. In Piauí, both human and canine VL are considered serious public health problems. **OBJECTIVE:** To describe the laboratory aspects, the distribution of cases of Canine Visceral Leishmaniasis (CVL) in the city of Pedro II and evaluate the control program from 2013 to 2019. **METHODOLOGY:** This is an observational, descriptive and retrospective study, with secondary data collection obtained by the Endemic Diseases Sector of the municipality of Pedro II and the reports of the Leishmaniasis Control Program in Piauí. **RESULTS:** Between May 2013 and December 2019, 4,276 rapid tests were carried out in Pedro II for the detection of CVL using the DPP Kit. Of this total, 3,583 (83.79%) were considered negative and 693 (16.21%) positive. The 2,132 samples were from the urban area, being 1,799 (84.38%) negative and 333 (15.62%) positive. In rural areas, 2,144 tests were performed, of which 1,784 (83.21%) were negative and 360 (16.79%) were positive. Of the 693 positive for DPP, only 370 performed the confirmatory ELISA test and 323 did not perform it due to various factors. Of the 370 who performed, 136 (36.76%) were considered negative, 76 from the urban area and 60 from the rural area; and 234 (63.24%) positive, being 134 from the urban area and 100 from the rural area. Of the total of 693 positive that were screened by the DPP test, 297 (42.8%), according to the claim of the owners themselves, would have been referred for euthanasia by themselves after receiving the result of the examination performed and, therefore, did not undergo the confirmatory test. Among those sacrificed, 106 (35.6%) came from urban areas and 191 (64.4%) from rural areas. The euthanasia of infected dogs performed by the endemic sector of Pedro II was carried out only after the positive result for CVL by the ELISA test. Thus, of the 234 infected dogs, 233 (99.5%) were euthanized, of which 134 (57.5%) were from urban areas and 99 (42.5%) from rural areas. Between 2013 and 2019, 13 sprays of pyrethroids were carried out in the urban area of Pedro II and 15 in the rural area. **CONCLUSIONS:** The year with the highest percentage of positive samples identified by the DPP was 2019, in the rural area, while for Elisa it was the year 2018 in the urban area. The neighborhood with the highest amount of pyrethroid sprays was Carnaúbas; Canine euthanasia is a practice performed by health professionals following a protocol and after confirmation by the ELISA test.

Keywords: City of Pedro II; Central-North Mesoregion of Piauí; *Leishmania infantum*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
1.1 Breve histórico da Leishmaniose Visceral	13
1.2 Agente etiológico	13
1.3 Reservatórios e hospedeiros	14
1.4 Vetores	15
1.5 Ciclo biológico e de transmissão	17
1.6 Epidemiologia da Leishmaniose Visceral	20
1.7 Leishmaniose Visceral no Piauí	22
1.8 Fauna entomológica de flebotomíneos em Pedro II	26
1.9 Sinais clínicos.....	27
1.10 Diagnóstico	29
1.11 Tratamento	31
1.12 Controle e prevenção.....	32
1.13 Justificativa e hipótese	34
2. OBJETIVOS	35
2.2 Objetivo geral	35
2.1 Objetivos específicos	35
3. MATERIAIS E MÉTODOS	35
3.1 Aspectos éticos	35
3.2 Desenho do estudo	36
3.3 Área de estudo	36
3.4 População e amostra	37
3.5 Procedimentos	38
3.6 Critérios de inclusão e exclusão	38
3.7 Análise estatística	38
4. RESULTADOS	39
4.1 Prevalência de Leishmaniose Visceral Canina	39
4.2 Análise dos testes rápidos DPP®	41
5. DISCUSSÃO	45
6. PERSPECTIVAS.....	52
7. CONCLUSÕES	53
8. REFERÊNCIAS	54
APÊNDICES.....	72

APÊNDICE A: ARTIGO DE REVISÃO INTEGRATIVA PUBLICADO NA REVISTA BRAZILIAN JOURNAL OF DEVELOPMENT	72
ANEXOS	84
ANEXO A: TERMO DE ANUÊNCIA PARA REALIZAÇÃO DO TRABALHO	84
ANEXO B: APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	85

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Número de novos casos reportados em 2018 no mundo segundo a Organização Mundial da Saúde. Fonte: WHO, 2018.	20
Figura 2: Casos de Leishmaniose Visceral no Brasil. Fonte: SVS/MS, 2017....	26
Figura 3: Esquema de funcionamento do teste rápido de Leishmaniose Visceral Canina - Dual Path Platform - DPP® Fonte: Adaptado de BioManguinhos/FIOCRUZ	30
Figura 4: Localização Geográfica do Município de Pedro II mostrando sua localização nas zonas da mesorregião e microrregião do Piauí. Fonte: Google Maps©; Qgis®.	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Espécies de flebotomíneos encontrados no município de Pedro II nos anos de 2006, 2016 e 2018.....	27
Tabela 2: Testes realizados utilizando-se o Kit Dual Path Platform – DPP, separados em total, positivas , prevalência e intervalo de confiança, em Pedro II – PI, entre 2013 e 2019.....	39
Tabela 3: Comparação entre casos positivos e negativos dos testes realizados com o uso do Kit Dual Path Platform – DPP e ELISA, separados por zona em Pedro II – PI, entre 2013 e 2019	41
Tabela 4: Comparação entre a quantidade de cães eutanasiados após o resultado positivo dos testes realizados pelo Kit Dual Path Platform – DPP e a quantidade de cães eutanasiados após o resultado positivo do teste de ELISA, separados por zona em Pedro II.....	42

Tabela 5: Registro de borrifação de Alfacypermetrina em localidades e unidades domiciliares da zona rural de Pedro II – PI entre 2013 e 2019..... 43

Tabela 6: Registro de borrifação de Alfacypermetrina em localidades e unidades domiciliares da zona urbana de Pedro II – PI entre 2013 e 2019..... 44

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Leishmaniose Visceral - Taxa de incidência por 100.000 hab. e número absoluto de óbitos em Pedro II no Período de 2007 a 2019. Fonte: SINAN, 2020. 24

Gráfico 2: Proporção de amostras positivas para Leishmaniose Visceral Canina pelo DDP, confirmados pelo teste de Elisa, por zona urbana e rural, no município de Pedro II – PI, de 2013 a 2019.* Informação não registrada. 40

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

LV	Leishmaniose Visceral
LVH	Leishmaniose Visceral Humana
LVC	Leishmaniose Visceral Canina
LTA	Leishmaniose Tegumentar Americana
OMS	Organização Mundial de Saúde
DPP	Kit Dual Path Platform
WHO	World Health Organization
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
VHS	Velocidade de Hemossedimentação
HIV	Human Immunodeficiency Virus
AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome
IFI	Imunofluorescência Indireta
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
PCR	Polymerase Chain Reaction
MS	Ministério da Saúde
LACEN-PI	Laboratório Central de Saúde Pública – PI
GAL	Sistema de Gerenciamento de Ambiente Laboratorial

1. INTRODUÇÃO

1.1 Breve histórico da Leishmaniose Visceral

A leishmaniose se manifesta de três formas conhecidas: visceral, cutânea e mucocutânea¹. A leishmaniose visceral (LV) foi descrita pela primeira vez na Grécia em 1835 e era denominada “*ponos*” ou “*hapoplinakon*”. Foi somente na Índia, em 1869, que recebeu o nome “*Kala-azar*”, palavra de origem Hindi que significa febre negra em virtude do discreto aumento da pigmentação da pele ocorrido durante a doença^{2,3}. Ainda na Índia, Leishman em 1900 e Donovan em 1903 descobriram que a doença era causada por um protozoário, que em 1903 foi denominado de *Leishmania donovani*, em homenagem aos pesquisadores. Posteriormente, na bacia do Mediterrâneo, relatou-se a ocorrência de uma LV semelhante ao kalazar que, em 1980, foi declarada acometendo também os cães, identificada como *L. canis* a espécie presente em cães na Tunísia⁴.

Nas Américas, a doença foi relatada pela primeira vez no Paraguai em 1913 por Migone⁵, detectada em um indivíduo febril oriundo do Brasil que havia trabalhado na construção de estrada ferroviária que ligava São Paulo a Corumbá em Mato Grosso do Sul. Após 13 anos, foi confirmada a autoctonia da doença na Argentina, por Mazza⁶ em 1926. Posteriormente, também foi observada na Colômbia, no México ao Norte da Argentina, atingindo ainda a Guatemala, Honduras, Nicarágua, Venezuela, Paraguai e Bolívia, sendo autóctone em 12 países das Americas^{22,185,186}.

Em território brasileiro, a LV teve sua descrição pela primeira vez em 1934, por Penna⁸, em meio a uma pesquisa de rotina para investigar a presença da febre amarela em 47.000 lâminas de viscerotomia (fígado) de pessoas falecidas de febres suspeitas em todo o país, principalmente nas regiões Norte e Nordeste. Nessa investigação, foram diagnosticados 41 casos de LV, sendo a maioria em crianças da região Nordeste, com predomínio do Estado do Ceará e três casos da Região Norte, do estado do Pará⁸. No período de 1953 a 1965, a doença foi reconhecida como endêmica no Brasil e de maior prevalência na América Latina, com destaque para o Ceará com 174 casos, Bahia com 31 e Piauí com 45 casos⁹.

1.2 Agente etiológico

A LV é causada por protozoários pertencentes à família Trypanosomatidae, ordem Kinetoplastida e gênero *Leishmania*. Atualmente, as espécies de leishmanias que podem infectar o homem são classificadas em complexos e agrupadas em dois subgêneros: *Viannia* e *Leishmania*¹⁰. O subgênero *Leishmania* (*Leishmania*) spp. é formado pelos complexos *mexicana* e *donovani*. Por sua vez, o complexo *donovani* engloba três espécies causadoras da doença, que são a *L. donovani*, *L. infantum* e *L. chagasi*¹¹.

O agente etiológico da LV na Índia, Paquistão, China Oriental, Bangladesh, Nepal, Sudão e Kênia (velho mundo) é a *L. donovani*, que apresenta um perfil antroponótico; nas regiões sudoeste e central da Ásia, nordeste da China, norte da África e Europa Mediterrânea é causada pela *L. infantum* e na América Latina (novo mundo) o agente causador é a *L. chagasi*, ambas classificadas como zoonose^{10,12}. Embora diferentes no nome e área de ocorrência, técnicas bioquímicas e moleculares revelaram que a *L. infantum* e *L. chagasi* são consideradas a mesma espécie.

Com isso, tem-se utilizado a denominação de *L. infantum* para o agente etiológico da LV nas Américas, passando então a considerar apenas estas duas espécies (*L. donovani* e *L. infantum*) como agente etiológico da LV no mundo¹³. Esses protozoários são parasitos intracelulares obrigatórios, caracterizados por completarem seu ciclo de vida em dois diferentes hospedeiros e são observadas principalmente duas formas distintas em seu ciclo biológico.^{14,15}

1.3 Reservatórios e hospedeiros

A LV pode ser classificada em silvestre e doméstica ou peridoméstica dependendo das características ecológicas locais e do tipo de hospedeiro canídeo¹⁶. O ciclo epidemiológico da LV silvestre envolve a participação do homem, vetor e um canídeo silvestre (raposa). Além dos canídeos, marsupiais, roedores e quirópteros são também incriminados como potenciais reservatórios silvestres¹⁷. Desses, os marsupiais (*Didelphis albiventris*) e a raposa (*Dusicyon vetulus* e *Cerdocionthous*) são os animais mais comumente envolvidos na transmissão da infecção¹⁸.

No Brasil, até meados da década de 1980, a LV era considerada uma doença predominantemente silvestre e rural. No entanto, algum tempo depois, a

doença começou a avançar para áreas urbanas e periurbanas de outras regiões do país¹⁹. O padrão epidemiológico rural foi modificado com o aumento da urbanização e, com isso, os animais com hábitos sinantrópicos promoveram a ligação entre os ciclos silvestre e doméstico da doença ²⁰.

No ambiente urbano, o ciclo epidemiológico da LV envolve a participação do homem, do vetor e do cão doméstico, sendo este a mais importante fonte de infecção pelo grande fator de risco para o desenvolvimento da doença em humanos e pela manutenção de focos endêmicos e epidêmicos nos grandes centros urbanos ²¹. A elevada susceptibilidade à infecção, o alto grau de parasitismo na pele e o convívio junto ao homem habilitam o cão como o principal reservatório urbano e como o responsável pela grande mudança no perfil epidemiológico desta doença ²². A alta prevalência da doença tem sido observada em áreas urbanas e isso pode ser atribuído à elevada densidade populacional; aumento das migrações; maior quantidade de animais de estimação; alta taxa reprodutiva dos cães, juntamente com o crescente abandono destes animais; alterações ambientais, condições de vida da população inadequada e maior adaptação e dispersão do vetor ao meio urbano ²³.

Tem sido aventada também, uma possível participação de outros animais no ciclo doméstico, tais como: felinos, equinos, suínos, caprinos, ovinos, bovinos e galináceos, seja como hospedeiros, reservatórios ou amplificadores da transmissão por atraírem flebotomíneos^{24,25,26}. Estudos evidenciam que somente a eutanásia de cães positivos não tem alcançado resultados satisfatórios no controle da doença e que é possível que exista a participação de outros animais reservatórios com potencial importância epidemiológica²⁷.

Desta forma, em áreas rurais é comum a alimentação dos vetores da LV por diversas espécies, enquanto que em áreas periurbanas e urbanas, o vetor tem maior interesse por galinhas. Embora galinhas sejam refratárias à infecção, a manutenção destes animais em ambiente próximo a moradia humana contribui para a existência de condições necessárias para a colonização do vetor ²⁸.

1.4 Vetores

Os vetores envolvidos na transmissão da LV são insetos hematófagos, conhecidos como flebotomíneos, pertencentes à família Psychodidae e

subfamília Phlebotominae²⁹. Aproximadamente trinta espécies de flebotomíneos das subtribos Lutzomyiina e Psychodopygina foram descritas como vetores da doença³⁰, com destaque para os gêneros *Lutzomyia*, *Migonomyia* e *Pintomyia* subtribo Lutzomyiina e os gêneros *Bichromomyia*, *Nyssomyia*, *Psychodopygus*, *Trichophoromyia* e *Viannamyia* em Psychodopygina³¹.

Esses insetos apresentam ampla distribuição geográfica de acordo com as condições climáticas, de vegetação e presença de hospedeiros vertebrados. Mundialmente, são conhecidas cerca de 900 espécies, das quais, mais de 500 foram identificadas na região Neotropical^{29,32}. Na América do Sul, do Norte e Central, a principal espécie transmissora da LV é o *Lutzomyia longipalpis*, apresentando ampla distribuição geográfica desde o sul do México até o norte da Argentina, e no Brasil ocorre nas regiões Norte, Nordeste, sudeste e Centro-Oeste³³. Ele pode ser encontrado em ambientes silvestres e em ambientes antropizados, tanto em zonas rurais quanto em zonas periurbanas, sendo capturados no intra e peridomicílio próximas às fontes alimentares³⁴.

Além dessa espécie, outras também são consideradas vetores da doença, tais como: *Pintomyia evansi*, descrita na Colômbia e Venezuela; *Lu. cruzi* encontrada somente no Mato Grosso do Sul; *Lu. forattini* que já foi identificada naturalmente infectada por *L. infantum* no Brasil^{35,36,37}. Alguns estudos apontam *Mg. migonei*, como sendo espécie vetora de *L. infantum*^{187,188} incriminada na transmissão de LVA. Atualmente, é a espécie mais incriminada depois de *Lu. longipalpis*. Estudos moleculares recentes usando técnicas de PCR foi identificado *Mg. migonei* infectado por *L. (L.) infantum*, o agente etiológico da LVA, em PE e CE. Em Pernambuco, a espécie infectada por *L. infantum*, foi o primeiro achado de infecção natural, sugerindo que esta poderia ser o vetor de *L. infantum* em áreas de LV onde *Lu. longipalpis* está ausente^{199, 200}.

Guimarães et al. (2016)²⁰¹ observaram a produção de formas metacíclicas de *L. (L.) infantum* em *Mg. migonomyia* criadas experimentalmente em laboratório. As infecções foram semelhantes as observadas em *Lu. longipalpis*, que levou os pesquisadores a considerar que *Mg. migonei* pode ser um vetor permissivo. Na Argentina, também há evidências epidemiológicas²⁰² de um possível papel vetorial do *Mg. migonei* na transmissão LVA.

Esses insetos são conhecidos popularmente como mosquito palha, cangalhinha, tatuquiras, birigui ou asa-dura e possuem atividade crepuscular e

noturna, se estendendo entre 18h e 5h da manhã ³⁸. São holometábolos por possuírem quatro fases de desenvolvimento: ovo, larva, pupa e adultos. As fêmeas depositam os ovos em locais úmidos e com disponibilidade de matéria orgânica, tais como em fendas rochosas, entre raízes de árvores, debaixo de folhas mortas e em cavernas ³⁹. O ciclo larval não ocorre na água e sim em matéria orgânica úmida, o que favorece sua adaptação no ambiente doméstico e peridomiciliar, contribuindo assim na dificuldade de combater ao vetor. Os insetos adultos são pequenos, medindo até 5mm, e apresentam asas eretas com comportamento de voo em pequenos saltos ⁴⁰. Em relação à alimentação, ambos os sexos se nutrem de néctar de flores, frutos e soluções ricas em carboidratos ⁴¹. Além disso, a hematofagia é um hábito alimentar exclusivo das fêmeas, sendo utilizado apenas para a maturação dos ovários, implicando assim na transmissão do agente etiológico⁴².

1.5 Ciclo biológico e de transmissão

O conhecimento do ciclo biológico e de transmissão de um parasito se configura em uma ferramenta importante na compreensão de sua epidemiologia e para a elaboração de medidas de controle, especialmente quando são ciclos complexos, como o da *L. infantum*, os quais participam diferentes hospedeiros e vetores ^{43,44}. O ciclo biológico da *L. infantum* é do tipo heteroxênico (digenético), pois alterna entre o hospedeiro definitivo, um vertebrado, e o intermediário, um vetor flebotomíneo ¹⁰.

As leishmanioses são antropozoonoses, tendo as características da transmissão diferentes quando apresentam o comportamento zoonótico ou o antroponótico⁴⁵. No primeiro, a transmissão é do animal para o vetor e deste para o humano, que se comporta ocasionalmente como hospedeiro e os animais, principalmente os canídeos, como reservatórios. No segundo, a transmissão é de humano para o vetor e deste para o humano, sendo então considerado como o único reservatório ⁴⁶.

Alguns morfotipos de *Leishmania* já foram relatados na literatura em vetores e culturas, sendo as duas principais formas evolutivas: i) a amastigota intracelular de fagócitos mononucleares dos vertebrados, são aflageladas, imóveis e ovoides; e ii) a promastigota flagelada encontrada no vetor, são móveis

e alongadas ^{47,48,49}. As diferenciações na morfologia, nutrição, mobilidade, metabolismo e crescimento dos morfotipos ocorrem para se especializarem às mudanças na circulação entre os hospedeiros nas diferentes fases do ciclo biológico. Dessa forma, os parasitos sobrevivem, reproduzem e modificam a expressão de proteínas se adequando às variações de temperatura, pH, alimento e oxigênio ^{50,51,52}.

Esses parasitos são intracelulares obrigatórios das células do sistema fagocitário mononuclear e o principal mecanismo de transmissão é por meio da picada da fêmea hematófaga do vetor flebotomíneo, que suga o sangue do vertebrado anteriormente infectado e ingere o parasito nas células parasitadas ou na forma amastigota ⁴⁶. A peça bucal da fêmea é curta, rígida, lacera a pele e os capilares sanguíneos presentes, sugando a pápula subcutânea gerada e libera saliva com substâncias anticoagulantes, vasodilatadoras, que facilitam a realização do repasto, e ainda causam efeito quimiotático que favorece a sobrevivência do parasito ^{53,54}.

Na porção média do aparelho digestório do inseto ocorre o processamento do sangue, bem como, a reprodução do parasito por sucessivas divisões binárias e modificação para a forma paramastigota, que adere ao epitélio da faringe e esôfago pelo flagelo e se diferenciam na forma promastigota metacíclica infectante⁵⁵. Os parasitos então migram para as regiões anteriores do tubo digestório e estão aptos para infectar um hospedeiro vertebrado no próximo repasto. Este ciclo referente ao inseto tem duração em torno de 6 a 9 dias ⁵².

Durante o repasto sanguíneo, ao serem regurgitadas junto com a saliva na derme do hospedeiro pela fêmea do flebótomo infectada, as promastigotas metacíclicas regurgitadas são fagocitadas pelos macrófagos de forma direta ou indireta. Nesse último, os neutrófilos são atraídos para o sítio da picada, podem internalizar os parasitos e posteriormente serem digeridos pelos macrófagos. Entretanto, a resposta biológica dos neutrófilos infectados é modificada por fatores provenientes do flebotomíneo ou do próprio parasito, bem como, por influência do sistema imunológico do hospedeiro, tendo atividade distinta dependendo da espécie de *Leishmania*^{56,57}.

Dentro do vacúolo do macrófago, os parasitos se modificam em amastigota e se reproduzem por divisão binária de tal forma que lisam a célula e são liberadas. Após, são então fagocitados por outros macrófagos e dessa forma

se disseminam pelo sangue e linfa chegando a infectar tecidos que também possuem células do sistema fagocitário mononuclear, tais como: linfonodos, medula óssea, baço e fígado ⁵⁸. O ciclo se repete quando um flebótomo faz o repasto no vertebrado infectado.

Mecanismos de transmissão não vetoriais foram relatados tanto em humanos quanto em cães. A LV congênita foi identificada no Sudão, em 1992, onde a criança veio a óbito aos sete meses de idade e a autópsia encontrou *Leishmania* em todos os tecidos ⁵⁹. Recentemente, um caso de leishmaniose congênita em um recém nascido com comprometimento hepático e neurológico foi documentado na Argélia ⁶⁰. Em um estudo feito com 124 cães nascidos de dezoito mães positivas para *L. infantum* foi identificado alto risco de transmissão vertical, com número reprodutivo básico de 4,12 ⁶¹. A rota transplacentária foi descrita para a transmissão congênita, em modelos com animais, sendo encontrados parasitos no tecido da placenta, feto e recém-nascido ⁶².

A transmissão venérea foi descrita em um relato de caso sobre infecção conjugal entre humanos, na Grã-Bretanha ⁶³. Essa via de transmissão também foi reportada em uma cadela na Alemanha ⁶⁴ e comprovada em um experimento com o cruzamento entre cães não parasitados com leishmania e cães naturalmente positivos, com o parasito encontrado no sêmen, no qual após as cópulas 50% (6/12) das fêmeas se tornaram infectadas ⁶⁵.

A infecção por meio de órgãos transplantados é reconhecida e neste caso, a doença se manifesta de forma tardia, geralmente em uma mediana de 32 meses ⁶⁶. Agulhas contaminadas, principalmente entre usuários de drogas que as compartilham, também são um meio de propagar o parasito, visto que para isso precisaria apenas de uma pequena quantidade de *Leishmania* no material sanguíneo remanescente na agulha, êmbolo ou seringa ⁶⁷.

Outra rota alternativa é a transmissão iatrogênica por transfusão sanguínea, cujo o risco foi descrito por Silva *et al.* ⁶⁸ ao realizarem PCR quantitativa em 500 amostras de sangue de um dos maiores bancos do Nordeste do Brasil e 6,2% continham o DNA de *Leishmania*. Uma pesquisa nesse sentido foi realizada em um banco de sangue no Mato Grosso do Sul, Brasil, e 178 amostras de 430 doadores também testaram positivo ⁶⁹.

Alguns fatores foram relatados como sendo relacionados ao potencial de transmissão da LV, como a carga parasitária ⁷⁰, o microbioma intestinal do vetor

⁷¹, hospedeiros assintomáticos competentes como infecciosos ⁷², aspectos populacionais ⁷³, as características das regiões rurais e urbanas ⁷⁴, aspectos climáticos e ambientais ⁷⁵.

1.6 Epidemiologia da Leishmaniose Visceral

A LV é uma doença negligenciada e é considerada um sério problema de saúde pública no mundo, com cerca de 50.000 a 90.000 casos novos¹. Os principais fatores de risco são as condições socioeconômicas, desnutrição, mobilidade populacional, mudanças ambientais e alterações climáticas ¹.

A doença encontra-se presente na Europa, Ásia, Norte da África e América do Sul ⁷⁶, sendo a bacia do Mediterrâneo, a China e a América do Sul os maiores focos, com maior representatividade da doença ocorrendo em indivíduos residentes em zona rural. Em 2018, 94% (20.792/22.145) dos casos novos foram registrados em sete países: Brasil, Etiópia, Índia, Kenya, Somália, Sudão e Sudão do Sul ⁷⁷(Figura 1).

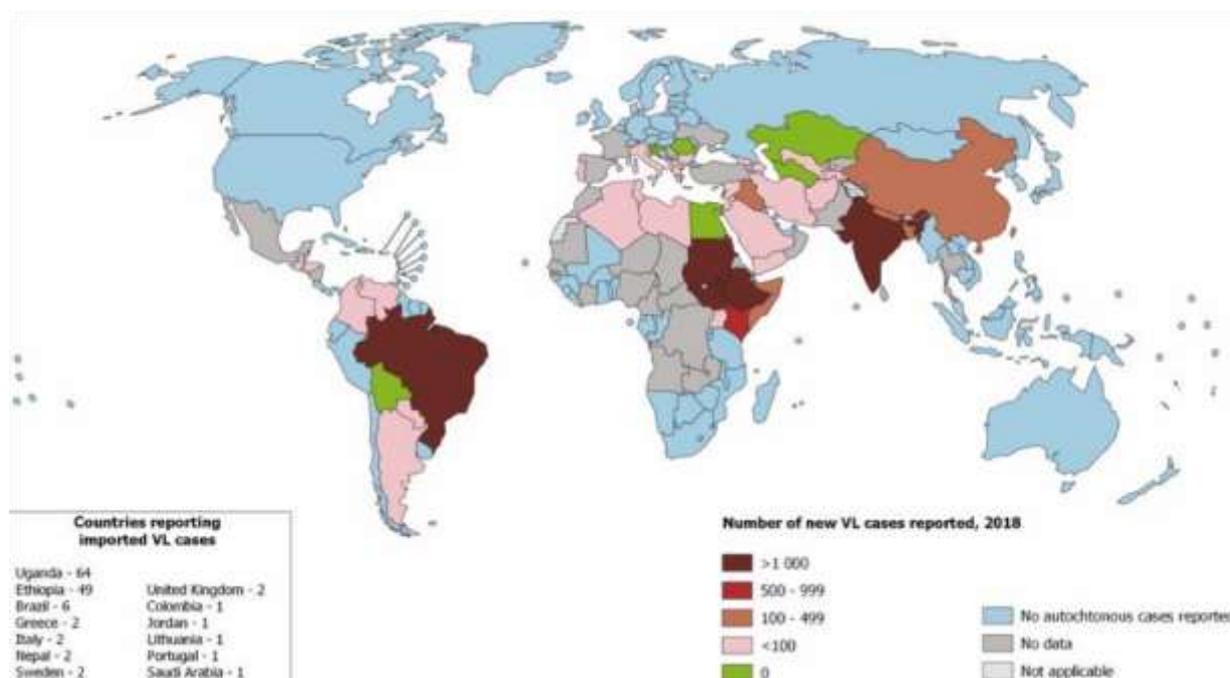


Figura 1: Número de novos casos reportados em 2018 no mundo segundo a Organização Mundial da Saúde. Fonte: WHO, 2018.

Na América do Sul, a LV está se expandindo geograficamente constituindo um grande desafio para a saúde pública, com casos humanos e caninos relatados em áreas rurais e urbanas, na qual cerca de 97% dos casos

informados, em 2019, foram provenientes do Brasil¹. No período de 2001 a 2016 houve uma grande expansão da doença na Argentina, Colômbia, Paraguai e Venezuela⁷⁸.

A LV foi relatada inicialmente como uma doença esporádica, de ambiente rural, que acometia seres humanos e cães que viviam em contato direto com ambientes silvestres. Posteriormente, ela foi considerada como sendo de ocorrência endêmica, com surtos ocasionais e típicos de áreas rurais com predomínio de cerca de 90% de casos ocorridos na região Nordeste, acometendo pessoas pobres⁷⁹. No entanto, a partir da década de 1970, essa zoonose reemergente apresentou um processo de transição epidemiológica, com mudança de perfil de morbidade e mortalidade. Com isso, na década de 1980, a doença tornou-se endêmica e epidêmica em várias metrópoles brasileiras, se expandido principalmente na região sudeste devido especialmente a fatores como urbanização, desmatamento e migração^{80,81}.

A transmissão da LV tem sido amplamente relatada nos municípios do Nordeste do Brasil, indicando ser esta a principal área endêmica do país, como no Piauí que teve o primeiro registro do município de Teresina em 1981. Outras regiões também registraram casos, como a Norte (Boa Vista e Santarém); Centro-Oeste (Cuiabá e Campo Grande); e Sudeste (Belo Horizonte e Montes Claros)^{82,83}.

A LV no Brasil está em franca expansão, instalando-se na periferia das cidades de grande e médio porte como Santarém (Pará), Aragominas (Tocantins), Montes Claros (Minas Gerais), Corumbá (Mato Grosso do Sul), Araçatuba (São Paulo), São Carlos (São Paulo) e São Borja (Rio Grande do Sul) e em outros estados a doença está presente nas capitais: Natal (Rio Grande do Norte), Palmas (Tocantins), São Luís (Maranhão), Teresina (Piauí), Belo Horizonte (Minas Gerais), São Paulo (São Paulo) e Rio de Janeiro (Rio de Janeiro) fazem parte da lista de doenças que compõem o Sistema de Doenças de Notificação Compulsória⁷.

O Brasil está entre os quatro principais países do mundo com o maior número de casos de LV e vem apresentando um cenário de distribuição para regiões que antes eram consideradas não afetadas em território nacional, atingindo uma ampla distribuição geográfica^{84,85}. No ano de 2019, foram

confirmados 2.827 casos de LV humana, com a região nordeste registrando a maior parte dos casos confirmados, seguida da região norte e sudeste ⁸⁶.

A expansão da LV tem sido associada ao êxodo rural aliado ao crescimento desordenado das cidades e as intensas transformações ambientais, contribuindo assim para a heterogeneidade da transmissão no meio urbano⁸⁷. De acordo com Werneck *et al.* ⁸¹, os diferentes cenários de transmissão provenientes das diferenças intraurbanas apresentam maior ou menor semelhança com o padrão rural, formando diferentes realidades sociais, culturais e ambientais que refletem na dinâmica da doença. Ainda segundo os autores, estes fatores contribuem para o contato entre seres humanos, vetores e outros animais, mas não são suficientes para afirmar que exista um padrão epidemiológico urbano de transmissão significativamente diferente do que ocorre no meio rural.

Um ponto importante é que a doença apresenta letalidade elevada quando não tratada de forma rápida e adequada ⁸⁸, tendo como principais fatores para esse aumento o diagnóstico tardio e a expansão da doença em grupos de indivíduos com comorbidades, cujas complicações infecciosas e as hemorragias são os principais fatores de risco para a morte por LV⁸⁹.

A alta incidência de LV atualmente, também tem sido associada com a expansão das comunidades, gerando precárias condições de saneamento básico associada à pobreza; falta de conhecimento e conscientização da população exposta; além das precárias medidas de controle vetorial e da população canina^{90,91}. Nas últimas décadas houve migração expressiva da população para as zonas urbanas. Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), 84% da população do país vivem em zona urbana, contribuindo assim para a existência de condições que favorecem a disseminação de doenças, tendo em vista que migram tanto os homens quanto seus animais domésticos⁹².

1.7 Leishmaniose Visceral no Piauí

A doença é conhecida no Piauí desde 1934, sendo considerado como uma das principais áreas endêmicas de LV no Brasil. O estado sofreu com duas grandes epidemias desde a notificação do primeiro caso humano ocorrido na década de 70. A primeira ocorreu em 1983-1984, com o registro de 308 casos

(66,32 casos/100.000 habitantes) e a segunda em 1993-1994 com 1.042 casos (94,92 casos/100.000 habitantes) e 34 óbitos (letalidade de 6,32%)⁸². A doença no estado estava inicialmente associada às áreas rurais, mas como consequência do desmatamento, urbanização, migração e intenso processo migratório ocorreu a expansão das áreas endêmicas, levando à urbanização da infecção^{93,94}. A maioria dos casos na década de 70 no Piauí foi registrada como procedente de Teresina, principalmente de regiões de clima semiárido, a sudeste e a leste ou com precipitação pluviométrica anual inferior a 800 mm e altitudes médias superiores a 200 m. Nessas áreas o vetor principal é o *L. longipalpis* e os principais reservatórios são o cão doméstico e a raposa *Dusicyon (Lycalopex) vetulus*, com transmissão da doença ocorrendo principalmente em pés-de-serra e boqueirões⁸².

Em um estudo realizado no Piauí por Santos *et al.*⁹⁵ foi revelada uma notificação de 954 casos humanos de 2012 a 2015, com a média anual de 238,5 casos, o que classifica o Piauí como uma importante área endêmica da LV no Nordeste do Brasil. O coeficiente de incidência anual variou de 6,04 a 8,92 casos por 100 mil habitantes durante o período estudado, mantendo-se mais elevado do que a média anual brasileira que é de 2 casos para cada 100 mil habitantes^{95,96}. Dados atuais do SINAN demonstram que foram notificados 2.101 novos casos de LV no estado entre 2009 a 2018, o que corresponde a uma incidência de 6,6 para 100 000 hab. Os municípios com maior incidência para 100.000 habitantes foram Avelino Lopes (28,09), Miguel Alves (26,98) e Pavussu (26,82), com o município de Avelino Lopes destacando-se como a quinta cidade do Brasil com a maior incidência de LV em 2016 (78,46 casos/100.000 hab.), segundo a Organização Pan-Americana da Saúde⁹⁷. Outro dado importante é que 69,21% dos casos de LV no Piauí de 2009 a 2018 ocorreram na zona urbana, possivelmente devido à expansão das habitações para áreas de floresta, favorecendo assim, uma interação entre ciclos silvestre e peridoméstico da doença⁹⁸.

Em Bom Jesus foi realizado um levantamento de dados na Vigilância Sanitária e na Secretaria da Saúde do município, no qual foi possível constatar que entre os anos de 2004 e 2010 notificaram 15 casos de leishmaniose humana, dos quais nove foram acometidos pela forma visceral, com todos os pacientes da zona urbana distribuídos por diferentes regiões da cidade. Ainda

segundo esse estudo, 33% dos casos possuíam cães em casa quando adoeceram, bem como, também residiam próximo à mata ciliar ⁹⁹.

Em relação à canina (LVC) no estado, resultado de um inquérito sorológico realizado no município de Valença do Piauí evidenciaram que de 190 cães analisados, 158 (83,15%) apresentaram resultados positivos para anticorpos (IgG) anti-leishmania. Além disso, algumas características culturais como a criação de animais domésticos e a manutenção do cão de guarda foram observadas, favorecendo assim, para a elevação dos índices de LVH ¹⁰⁰.

Nos anos de 2014 e 2015 foram notificados em Floriano 121 casos de LVC e 6 casos de LVH em 29 bairros predominantemente periféricos. Conforme o Centro de Controle de Zoonoses do município, a estimativa populacional de cães na zona urbana é 9.000 cães, o que permite prever um índice de positividade canina de LVC em torno de 41,8% e incidência de 134,4 casos/10.000 cães. Em relação a LVH, a incidência calculada foi de 1,2 casos/10.000 habitantes¹⁰¹.

No município de Pedro II, a distribuição da LVH demonstra um padrão cíclico da doença no período entre 2007 a 2019, com uma taxa de incidência maior nos anos de 2008 e 2018, contando com um óbito neste período ⁸⁶(Gráfico 1).

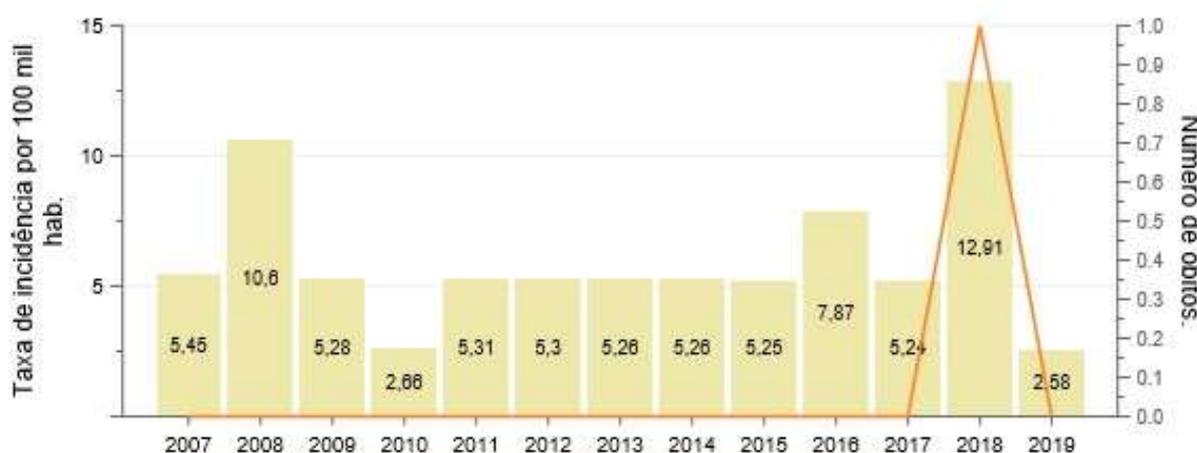


Gráfico 1: Leishmaniose Visceral - Taxa de incidência por 100.000 hab. e número absoluto de óbitos em Pedro II no Período de 2007 a 2019. Fonte: SINAN, 2020.

Esta distribuição pode estar relacionada com o avanço do ser humano em áreas florestais e de mata fechada para extração de madeira, construção civil, pecuária e principalmente mineração ⁸¹, tendo em vista que o município é a única

reserva de opala no Brasil, segunda maior jazida mineral do mundo atrás apenas da Austrália. A cidade é responsável por praticamente 100% da produção de joias artesanais de opalas do Piauí, constituindo sua principal atividade econômica ¹⁰².

De acordo com dados disponibilizados pela Secretaria Municipal de Saúde de Pedro II foram registrados 35 casos de Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA), 13 de LVH entre os anos de 2013-2018 e contabilizado um total de 899 casos de LVC durante o período de 2013-2019. Nos últimos anos, houve grande expansão no município, o que aproximou as zonas urbanas e rurais com a criação de novos bairros, além de ter aumento de casos caninos a partir do ano de 2017. Essa rápida expansão pode ser um dos fatores que vem contribuindo para a manutenção da doença no município¹⁰³.

Vale ressaltar, que as infecções dos cães tendem a preceder a aparição dos casos humanos, pois o cão é o reservatório da doença. Estima-se ainda que, para cada caso humano, ocorra uma média de pelo menos 200 cães infectados ¹⁰⁴. Sendo assim, é necessário o conhecimento do perfil epidemiológico da doença nas diferentes localidades, que normalmente está associada à migração da população humana e canina, à presença do vetor transmissor, dos diferentes hospedeiros e reservatórios envolvidos no ciclo biológico da enfermidade ¹⁰⁵.

A análise da fauna de flebotomíneos demonstrou que a espécie mais encontrada foi *Lu. longipalpis*, uma vez que é caracterizada por ter uma grande capacidade de adaptação em meios urbanos e rurais, o que aumenta a sua competência vetorial na transmissão do agente causador da LVH e LVC ¹⁰⁶.

No Brasil, *Lu. longipalpis* é, sem dúvida, o principal transmissor da LVH e da LVC, estando presente na quase totalidade dos focos; é uma espécie altamente antropofílica, além de sugar cães, raposas e gambás (reservatórios de *L. (L.) infantum*) e tem sido frequentemente encontrada naturalmente infectada ^{192,193,194}. Entretanto, em Corumbá e Ladário (Mato Grosso do Sul), *Lu. cruzi* é suspeita como transmissora de LVH e LVC, com base em estudos que registraram a alta densidade e a infecção natural na espécie ^{195,196}.

A predominância do *Lu. longipalpis* sobre outras espécies de flebotomíneos pode estar relacionada com a competitividade por recursos naturais e da alta adaptabilidade a ambientes antrópicos. Andrade *et al.* (2012)¹⁰⁷ demonstrou que a redução do número de indivíduos de um gênero,

principalmente em locais com densidade de espécies variadas, pode estar relacionada com esta competição que, em geral, está ligado à disputa por território e alimentos. A LV está presente em todas as regiões do Brasil com alguns estados com aspectos epidemiológicos a serem esclarecidos. Em 2015 surgiu o primeiro caso humano no estado do Paraná em Foz do Iguaçu. Em 2016/ 2017 foram registrados casos humanos e caninos sem a presença de *Lu. longipalpis* e *Lu. cruzi* na região Sul, nos estados de Santa Catarina (Florianópolis) e do Rio Grande do Sul (Porto Alegre). Em 2017, na região Norte (Roraima e Amapá) surgiram os primeiros casos caninos autóctones (Figura.2)

197

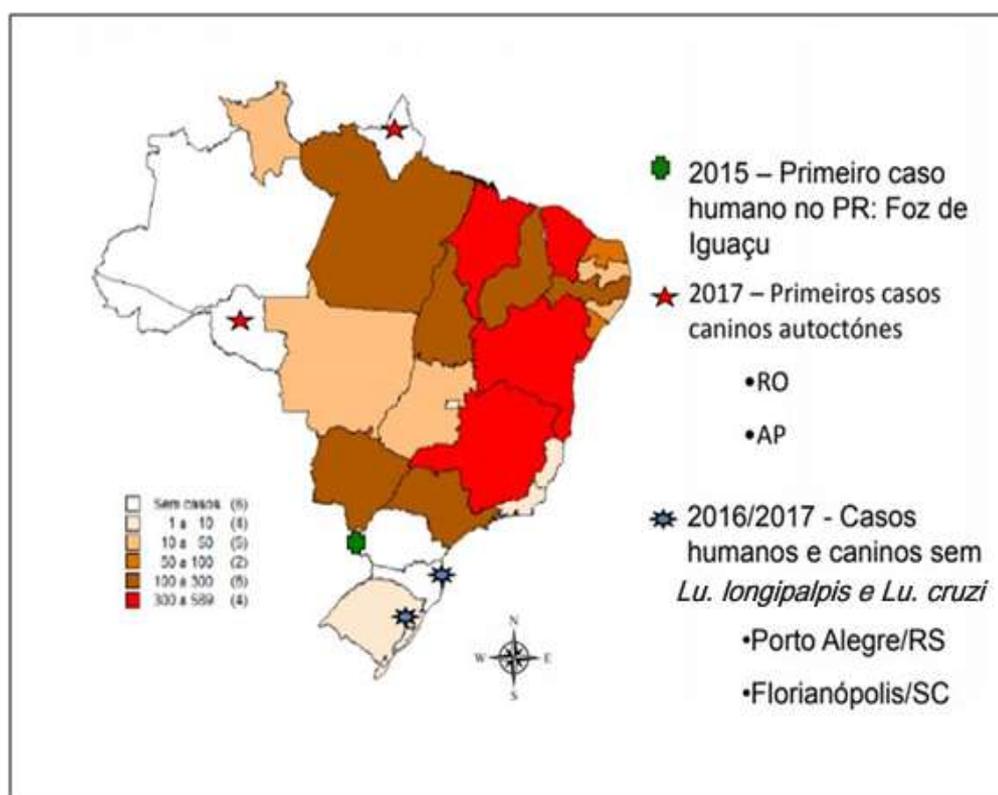


Figura 2: Casos de Leishmaniose Visceral no Brasil. Fonte: SVS/MS, 2017.

1.8 Fauna entomológica de flebotomíneos em Pedro II

Segundo os relatórios do programa de controle das leishmanioses realizados em 2006, 2016 e 2018, a fauna de flebotomíneos do município de Pedro II é formada por seis espécies pertencentes aos gêneros *Lutzomyia* sp., *Nyssomyia* sp., *Evandromyia* sp. e *Migonomyia* sp. O complexo *Lu. longipalpis* foi a espécie mais encontrada em relação as demais (Tabela 1).

Tabela 1: Espécies de flebotomíneos encontrados no município de Pedro II nos anos de 2006, 2016 e 2018.

Ano: 2006					
Bairro	Gênero	Espécie	Macho	Fêmea	Total
Santa fé	<i>Lutzomyia</i>	<i>Lu. longipalpis</i>	23	16	39
	<i>Nyssomyia</i>	<i>Ny. whitmani</i>	7	12	19
		<i>Ny. intermedia</i>	0	3	3
Buritizinho	<i>Lutzomyia</i>	<i>Lu. longipalpis</i>	11	6	17
	<i>Nyssomyia</i>	<i>Ny. whitmani</i>	2	2	4
	<i>Evandromyia</i>	<i>Ev. lenti</i>	3	1	4
Areia Branca	<i>Lutzomyia</i>	<i>Lu. longipalpis</i>	3	2	5
Ano: 2016					
Santa fé	<i>Lutzomyia</i>	<i>Lu. longipalpis</i>	15	5	20
	<i>Migonomyia</i>	<i>Mg. migonei</i>	5	2	7
	<i>Evandromyia</i>	<i>Ev. carmelinoi</i>	3	0	3
Centro	<i>Lutzomyia</i>	<i>Lu. longipalpis</i>	13	2	15
	<i>Migonomyia</i>	<i>Mg. migonei</i>	8	3	11
Vila kolping	<i>Lutzomyia</i>	<i>Lu. longipalpis</i>	7	2	9
	<i>Migonomyia</i>	<i>Mg. migonei</i>	9	5	14
Ano: 2018					
Mutirão	<i>Lutzomyia</i>	<i>Lu. longipalpis</i>	7	3	10
Centro	<i>Lutzomyia</i>	<i>Lu. longipalpis</i>	220	180	400
	<i>Evandromyia</i>	<i>Ev. lenti</i>	15	6	21
Lago do sucurujú	<i>Lutzomyia</i>	<i>Lu. longipalpis</i>	48	27	75

Fonte: Programa de controle da leishmaniose – Pedro II.

1.9 Sinais clínicos

A LVH e a LVC são as formas mais graves da doença, se comportando como uma enfermidade de caráter crônico, sistêmico e generalizado, na qual algumas manifestações clínicas são comuns a outras patologias, especialmente no estágio inicial ⁴⁶. O período de incubação varia em média de 2 a 6 meses em humanos e de 3 a 7 meses em cães; a evolução clínica apresenta amplo espectro que vai desde assintomática, cura espontânea até às formas discretas oligossintomáticas ou as manifestações graves que podem ocasionar o óbito ¹⁰⁸.

A diversidade de manifestações clínicas está relacionada ao sistema imunogenético do hospedeiro e a fatores referentes à carga parasitária, virulência e antigenicidade ^{109,110}. Entre os humanos, as populações consideradas como de risco abrangem crianças de até 6 anos de idade, adultos com idade ≥ 60 anos, indivíduos com organismo imunocomprometido e/ou desnutridos ^{111,112}.

A LVH deve ser considerada como suspeita quando ocorrer febre e esplenomegalia, estando entre os sinais e sintomas mais comuns a febre prolongada e irregular, anorexia, caquexia, edema, hepatoesplenomegalia e emagrecimento. O quadro hematológico mais frequente se caracteriza por anemia, leucopenia, trombocitopenia, bicitopenia, pancitopenia, ferritina plasmática e a velocidade de hemossedimentação (VHS) elevada ^{113,114}.

Algumas manifestações clínicas incomuns em LVH foram descritas como o comprometimento renal, representado por crioglobulinemia mista e glomerulonefrite membranoproliferativa ¹¹⁵; lesões focais do baço ¹¹⁶; hematêmese e envolvimento do sangue periférico ¹¹⁷. Em pacientes com imunodeficiências primárias, secundárias e coinfeções virais, como a dengue, HIV e citomegalovírus, as manifestações são atípicas e, aliadas à similaridade entre alguns sintomas, podem influenciar no atraso ao diagnóstico ¹¹⁸.

Já na LVC, a suspeita deve ser investigada quando forem observadas inflamações nas conjuntivas, linfadenomegalia, emagrecimento, alopecia, esplenomegalia, onicogribose e ferimentos cutâneos no animal. A pele geralmente é a primeira parte do corpo a demonstrar sinais clínicos, como o aparecimento de lesões e pelo opaco, devido a sua imunopatogênese que desempenha um papel importante no envolvimento de fatores do complemento, células de *Langerhan*, neutrófilos, fibroblastos e queratinócitos na ativação da resposta imune ¹¹⁹.

Com a evolução da doença, outros sintomas no animal também podem aparecer, como hiperqueratose, hemorragia intestinal, corrimento na mucosa nasal, diarreia; sinais neurológicos, a exemplo de distúrbios visuais, convulsão, tetraplegia, vocalização; e comportamentos atípicos, como insistência em perseguição à cauda e repetição de andar em círculo ^{120,121}. No quadro hematológico e bioquímico encontram-se a trombocitopenia, redução da viscosidade sanguínea, dos eritrócitos, hematócrito e plaquetas, linfopenia, leucocitose, ureia e hiperproteinemia ^{122,123}.

A diversidade da sintomatologia nos canídeos possibilitou uma categorização quanto a quantidade e tipo de sintomas apresentados, sendo a classificação em assintomático, oligossintomático, com poucos sintomas como: emagrecimento, pelo opaco e adenopatia linfoide, e sintomáticos ou polissintomáticos quando manifestam mais que isso ¹²⁴.

1.10 Diagnóstico

O diagnóstico baseado na identificação dos sinais clínicos da LV, canina ou humana, pode ter baixa confiabilidade por não serem patognomônicos devido à semelhança dos sintomas com outras enfermidades ¹²⁵. Dessa maneira, é importante o auxílio ao diagnóstico com a comprovação da presença ou o vestígio do parasito por meio de exames laboratoriais, dentre os quais destacam-se os parasitológicos, imunológicos e moleculares.

O diagnóstico parasitológico é baseado na identificação de formas amastigotas do parasito em material de esfregaço esplênico, de medula óssea, pele, linfonodo e baço, com a visualização facilitada pela coloração com *Giemsa*, *MayGrünwald-Giemsa* ou *Leishman*¹²⁶. As vantagens são a especificidade, o baixo custo e maior praticidade; as desvantagens são a necessidade de técnico com expertise na análise das lâminas e a variação da sensibilidade de acordo com o tecido. Apesar da biópsia esplênica ser a mais sensível, pode ocasionar risco hemorrágico sendo preferível o aspirado da medula óssea ¹²⁷.

Quanto ao diagnóstico imunológico, os testes sorológicos são baseados na detecção de anticorpos ou autoanticorpos contra a *Leishmania* e os mais conhecidos são o Imunofluorescência Indireta (IFI), o Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA) e o teste rápido imunocromatográfico. Em uma comparação entre diferentes testes sorológicos no diagnóstico da infecção por *L. infantum* em cães, nenhum atingiu 100% de sensibilidade e especificidade ¹²⁸. Um estudo utilizando 101 soros caninos, sendo 30 de cães com resultado parasitológico positivo para *L. infantum* e 71 provenientes de cães saudáveis, demonstrou a sensibilidade e a especificidade de 90% e 100% para o ELISA e 40% e 98,6% para IFI, respectivamente ¹²⁹. Reações cruzadas em exames sorológicos também são relatadas ¹³⁰.

No Brasil, para a detecção de cães infectados, faz-se a triagem com o teste rápido de LVCDual Path Platform - DPP® que detecta anticorpos contra antígenos de amastigotas e os soros positivos são confirmados através de um ensaio imunoenzimático (ELISA), que identifica anticorpos específicos contra antígenos solúveis de promastigotas. Os animais com sorologia negativa no DPP são considerados livres de infecção ¹³¹.

Os testes rápidos para a detecção de anticorpos anti-*Leishmania* têm a vantagem de serem de fácil execução (15 minutos), podendo utilizar sangue, soro ou plasma, e serem realizados e interpretados por pessoal treinado em um curto espaço de tempo. Além disso, não necessita de estrutura laboratorial, podendo ser realizado em campo, apresentando índices confiáveis de sensibilidade e especificidade. Estes testes utilizam membranas de nitrocelulose que são previamente impregnadas com proteínas recombinantes do parasita, como a rK39, e amostras de soro de cães suspeitos de estarem infectados. O soro é colocado sobre a membrana de nitrocelulose onde ocorre a visualização da interação antígeno-anticorpo, caso o animal possua anticorpos anti-*Leishmania*¹³² (Figura 3).

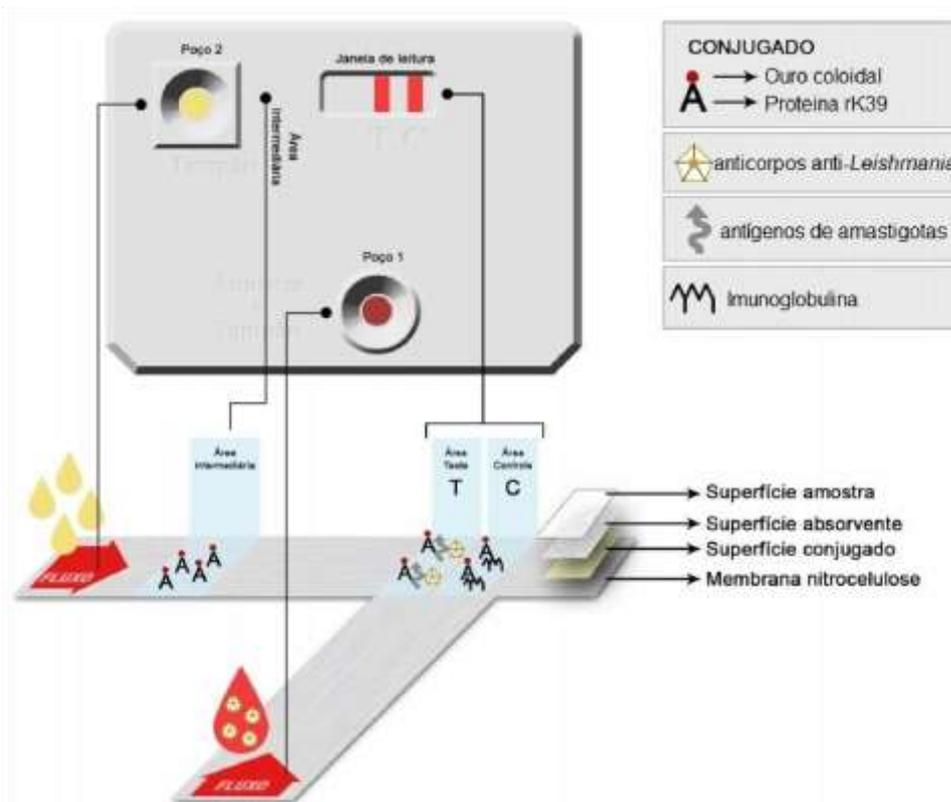


Figura 3: Esquema de funcionamento do teste rápido de Leishmaniose Visceral Canina - Dual Path Platform - DPP® Fonte: Adaptado de BioManguinhos/FIOCRUZ

As técnicas moleculares têm sido empregadas para auxiliar no diagnóstico, quantificação e diferenciação das espécies de *Leishmania* sp. pela alta sensibilidade e especificidade, porém demandam equipamentos e reagentes caros, técnico especializado e necessidade de padronização ¹³³. Apesar disso, com o avanço tecnológico, as ferramentas moleculares estão sendo cada vez mais utilizadas.

Dentre as técnicas moleculares, a reação em cadeia da polimerase (PCR) é a mais comum e sugerida com sucesso para o diagnóstico ¹²⁷. Estudos de prevalência utilizando essa metodologia têm sido empregados no Brasil, Armênia e Argélia ^{134,135,136}. A expectativa é pelo aprimoramento dos métodos com a finalidade de fácil realização, menos custo e melhor interpretação, a exemplo do uso de nanopartículas como biomarcadores devido a sua capacidade de interagir facilmente com as biomoléculas ¹³⁷.

1.11 Tratamento

A LV é considerada potencialmente fatal caso não seja tratada, no entanto o grande desafio está na eficácia dos fármacos existentes, visto que os parasitos são intracelulares e se localizam em tecidos pouco vascularizados, dificultando o acesso e o sucesso do tratamento¹³⁸. Alguns quimioterápicos conhecidos são o estibogluconato de sódio-NIV, paromomicina-NIV, stibogluconato de sódio (SSG), antimoniato de meglumina (MA), anfotericina B lipossomal (LAmB), miltefosina, paromomicina (PM). São usados isoladamente ou combinados em terapia multifármaco, como preconizado na Índia e África Oriental ¹³⁹.

As limitações para o uso destes fármacos estão na toxicidade, sendo conhecidas as arritmias cardíacas, nefrotoxicidade, hepatotoxicidade, hipocalcemia e miocardite ¹⁴⁰. A possibilidade de recidiva após o tratamento também é uma problemática ¹⁴¹. Outras dificuldades pertinentes são: imunocomprometidos como exemplo, a associação com HIV/AIDS; diferentes respostas regionais; o surgimento de linhagens de cepa resistentes às drogas existentes no mercado; e com relação aos cães seria a possibilidade de animais em tratamento permanecerem como reservatório e acentuarem o risco de transmissão ^{142,143}.

No Brasil, essas questões culminaram na Portaria Interministerial nº 1426, do Ministério da Saúde e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, publicado em julho de 2018, que "proíbe o tratamento de LVC com produtos de uso humano ou não registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento" ¹⁴⁴. Em 2013, o Acórdão 8268/2013, publicado pelo Tribunal Regional Federal da 3ª Região, considerou ilegal a portaria supracitada, mas apenas em 2016 foi aprovado o uso do Milteforan em cães ^{145,146}. Este medicamento vendido no Brasil tem a miltefosina como princípio ativo e é o único que se enquadra nas especificações vigentes na referida portaria ¹⁴⁷. Além de reduzir a carga parasitária no animal tem a facilidade de poder ser usado pela via oral¹⁴⁸.

Os principais fármacos usados no tratamento humano no Brasil são: o Glucantime (sendo o de primeira escolha) e a Anfotericina B cujo uso é recomendado somente para pacientes com risco aumentado de gravidade da doença¹⁴⁹.

As perspectivas de progresso nos tipos de tratamento estão centradas nos investimentos em pesquisas para a melhoria do arsenal terapêutico, com ênfase na imunoterapia, no ataque a alvos moleculares dos parasitos e nos biomarcadores como os alvos metabólicos, bioquímica organelar, vias de resgate e epigenética ^{150,151,152}. Essas iniciativas podem contribuir significativamente para compreender e potencializar as vias para a eliminação da doença.

1.12 Controle e prevenção

No Brasil, uma campanha foi desenvolvida em 1953 com o intuito de compreender e enfrentar a LV em decorrência ao crescente número de casos. Na década de 60 e 70, houve uma fragmentação da campanha sendo retomada a partir de 1980 com a estruturação do Programa de Controle da LV para o combate principalmente em áreas epidêmicas/endêmicas. Neste, as medidas pretendiam diminuir a população de reservatórios canídeos e vetores com o sacrifício do cão infectado e borrifação domiciliar, respectivamente, visando reduzir os riscos de transmissão. Além disso, almejaram potencializar o tratamento e diagnóstico para decrescer a letalidade e morbidade do agravo em

questão. Dessa forma, atingiam os três principais componentes do ciclo de transmissão: vetor, canídeo e o homem ¹⁵³.

Ações de vigilância foram agregadas e a partir de 2003 o Programa de Vigilância e Controle da LV considerou as especificidades das áreas de risco para recomendação, tomada de decisões e monitoramento ¹⁵⁴. Apesar disso, regiões do país como o Nordeste, a exemplo do Piauí, permaneceram endêmicas, não sendo possível reduzir as frequências em humanos a taxas aceitáveis, tampouco a positividade em cães, dados estes evidenciados nos relatórios do Programa de Controle das Leishmanioses realizados em 2006, 2016 e 2018^{155,81}.

O fracasso nesses programas de controle pode ser referido à descontinuidade das ações devido à escassez de orçamento financeiro, de recursos humanos capacitados, pelo perfil das regiões urbanas sobre a violência, que impossibilita o acesso a áreas restritas, e a não passividade da população em aceitar a eliminação do cão ^{156,157}. Enfatiza-se ainda que o sacrifício canino já foi amplamente utilizado no país, porém tem sido considerado ineficiente além de polêmico, envolvendo questões éticas e judiciais ¹⁵⁸.

As limitações em relação ao controle da LV também estão relacionadas às características biológicas do parasito, vetor, reservatórios, hospedeiros vertebrados e de suas interações e inter-relações entre si e com o ambiente. Assim, podem-se destacar os aspectos sobre a variabilidade genética de parasitos e vetores, com a existência de cepas e híbridos de *Leishmania*, bem como a diversidade intra e interespecífica de flebotomíneos ^{159,160,161}; a adaptação do ciclo de transmissão de espécies silvestres, devido às mudanças ambientais e climáticas provenientes da antropização e urbanização ¹⁶²; e o aumento populacional do principal reservatório, devido ao abandono de cães que procriam em excesso ficando genitores e prole expostos e vulneráveis à contaminação e transmissão ¹⁶³.

Além disso, vale ressaltar ainda os fatores socioeconômicos que dificultam o controle da leishmaniose, como a pobreza, desnutrição, aumento de aglomerados urbanos e a redução de recursos para moradia adequada, saneamento básico, educação e saúde ¹⁶⁴. Apesar dessas questões, incentiva-se que façam parte da rotina do indivíduo algumas iniciativas importantes na prevenção, das quais podem ser citadas o uso de telas finas e mosquiteiros,

repelentes, coleiras impregnadas com repelente e inseticidas em cães, evitar a exposição ao vetor e a criação de animal doméstico no intradomicílio, limpeza de quintais e correto destino aos resíduos sólidos^{165,166}.

Outra estratégia potencial para o enfrentamento da leishmaniose é o desenvolvimento de vacinas. Para cães, imunizantes foram capazes de inibir a penetração de formas promastigotas e amastigotas em macrófagos e induzir perfis imunológicos adequados¹⁶⁷. Giunchetti *et al.*¹⁶⁸ validaram alguns biomarcadores capazes de subsidiar o aprimoramento no desenvolvimento de vacinas contra a LVC.

Em humanos, as vacinas tradicionais que utilizam organismos vivos atenuados ou mortos podem causar reatogenicidade não específica e as que são à base de peptídeos sintéticos podem apresentar atividade imunogênica insuficiente¹⁶⁹. A estratégia está em identificar um sistema adjuvante contendo imunostimulante ou imunomodulador que otimize o efeito da vacina candidata¹⁷⁰.

Existem perspectivas quanto a aquiescência do uso de imunizante com o protozoário vivo atenuado modificado geneticamente¹⁷¹. Modelagens em imunoinformática corroboram para o entendimento do processo de imunização¹⁷². Apesar dos esforços contínuos que têm sido empregados para a produção de uma vacina eficiente, eficaz e com proteção duradoura para humanos, ainda não foi possível lograr êxito nesse sentido¹⁷³.

1.13 Justificativa e hipótese

Atualmente, no estado do Piauí, os testes sorológicos são realizados em um laboratório de referência (LACEN-PI) que presta um importante serviço de saúde pública para a comunidade local. Em função das ações adotadas pelo Programa de Controle da LV, faz-se necessária a realização de um diagnóstico sorológico eficaz dos cães com suspeita de LVC, com o objetivo de evitar o sacrifício desnecessários de cães com diagnóstico sorológico inconclusivo. Recentemente, o município de Pedro II, um importante centro de turismo ecológico, cultural, e com uma tradicional atividade de mineração de opalas, tem relatado casos crescentes de LVC, tanto na zona urbana como na zona rural.

Considerando essas questões, a hipótese a ser trabalhada é que a ocorrência da LVC associada ao avanço da urbanização e incremento de atividades em áreas florestais e de mata fechada por diversos fatores, dentre eles, a mineração e o turismo, tendo em vista que o município de Pedro II é a única reserva de opala no Brasil, pode contribuir para o aumento de casos de LV humana e canina no município.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Analisar a distribuição dos casos e ações de controle da leishmaniose visceral canina (LVC) no município de Pedro II no período de 2013 a 2019.

2.2 Objetivos específicos

- Estimar a prevalência de LVC no município de Pedro II;
- Avaliar a adequação da realização dos testes realizados para a confirmação do diagnóstico da LVC (DPP e ELISA) ao preconizado pelo MS;
- Relacionar a variação anual da prevalência da LVC com as ações de controle no município de Pedro II;
- Determinar a distribuição da LVC nas zonas urbana e rural em Pedro II;
- Avaliar as medidas de controle vetorial através da borrifação e de reservatórios realizadas em Pedro II.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Aspectos éticos

O estudo foi aprovado na Comissão de Ética da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) para a utilização de dados pessoais referentes aos proprietários dos

cães analisados, uma vez que foram necessários para a realização da análise espacial da distribuição de LVC no município de Pedro II – PI.

3.2 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo observacional, descritivo e retrospectivo, com coleta de dados secundários obtidos do Setor de Endemias do município de Pedro II e relatórios do Programa de Controle das Leishmanioses realizados entre 2013 a 2019.

3.3 Área de estudo

Pedro II é um município do estado do Piauí com uma área territorial de 1.544,565 km² (2018) e uma população estimada de 38.742 pessoas (2019) de acordo com o IBGE (2019)¹⁷⁴, sendo uma região de clima tropical alternadamente úmido e seco, com duração do período seco de seis meses (Figura 4).

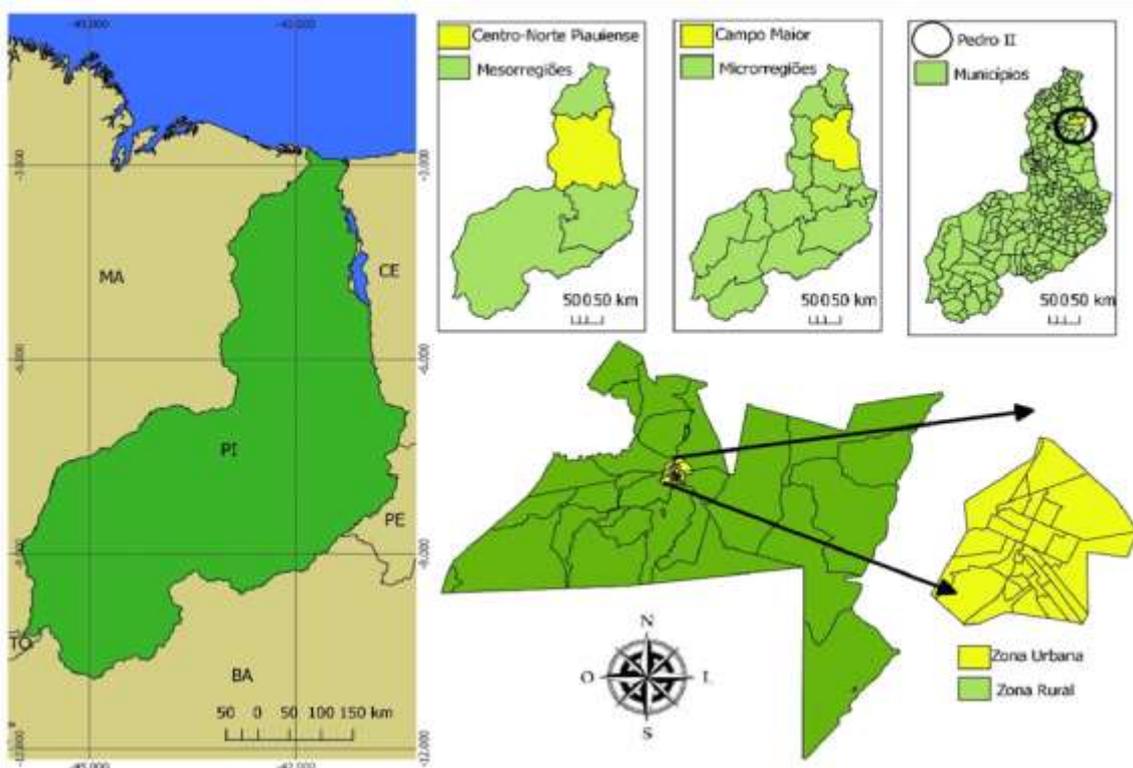


Figura 4: Localização Geográfica do Município de Pedro II mostrando sua localização nas zonas da mesorregião e microrregião do Piauí. **Fonte:** Google Maps©; Qgis©.

O município de Pedro II localiza-se a uma latitude 04°25'29" sul e a uma longitude 41°27'31" oeste, estando a uma altitude de 603 metros. A cidade está localizada na Serra dos Matões, apresentando um clima ameno. Sua temperatura varia entre 28 °C e 30 °C ao dia e 20 °C a 16 °C à noite, com média pluviométrica de cerca de 1.100 mm anuais e chuvas concentradas de janeiro a maio. A vegetação local é caracterizada pela transição entre cerrado, carrasco e mata dos cocais, predominando as duas primeiras. No alto do planalto da Serra dos Matões, em altitudes superiores a 700 m existe uma vegetação característica denominada 'campos rupestres', delimitado pelos municípios de Domingos Mourão, Lagoa de São Francisco e São João da Fronteira ao norte; Milton Brandão, Buriti dos Montes e Jatobá do Piauí ao sul; Capitão dos Campos a oeste; e o Estado do Ceará a leste (IBGE,2019)¹⁷⁴. O município tem como principal produto de sua economia a extração de pedras preciosas com destaque para as minas de opalas e segunda maior jazida mineral do mundo, atrás apenas da Austrália. Também se destaca um rico artesanato à base de fio de algodão que dá origem a tapeçarias e redes, entretanto, a base da economia é a agricultura.

3.4 População e amostra

Foram analisados dados das amostras de cães, independente de sexo, idade e raça, com teste DPP® positivo encaminhados para o LACEN- PI durante o período de 2013 a 2019, para o diagnóstico de LVC, provenientes da zona rural e urbana do município de Pedro II. O Laboratório Central de Saúde Pública – PI (LACEN PI), localizado na cidade de Teresina, trata-se de um laboratório público vinculado à Secretaria Estadual de Saúde, através da Superintendência de Vigilância em Saúde. Atende diversas demandas provenientes das Regionais de Saúde, Vigilância Epidemiológica, Vigilância Sanitária e Vigilância Ambiental, além de coordenar a Rede de Laboratórios Públicos e Privados que realizam análises de interesse em saúde pública.

3.5 Procedimentos

Foram analisados todos os resultados das amostras de LVC provenientes do município de Pedro II no período de 2013 a 2019. Dados relacionados aos resultados do teste rápido DPP dos cães foram cedidos pelo Setor de Endemias do município de Pedro II. Os referentes ao teste ELISA foram realizados pelo LACEN PI, que implementa as informações no sistema de Gerenciamento de Ambiente Laboratorial – GAL, ficando então estas informações disponíveis para acesso pelo Setor de Endemias de Pedro II. Além dessas informações, foram analisadas também, a frequência de borrifação de alfacipermetrina para eliminação das formas aladas do vetor responsável pela transmissão da LV.

Algumas informações relevantes são registradas neste sistema, tais como: município do domicílio, nome do proprietário, endereço, idade do animal, sexo, dentre outras.

3.6 Critérios de inclusão e exclusão

Foram incluídas no estudo todas as amostras de cães com teste DPP positivo (realizado em Pedro II) encaminhadas para o LACEN-PI para ser realizado o teste ELISA no período de 2013 a 2019. Os critérios de exclusão foram os cães serem menores de três meses e em processo de tratamento.

3.7 Análise estatística

Para análise do número de casos de LVC na população de Pedro II, durante o período de estudo, foi realizado o cálculo de prevalência dado pelo número de casos positivos dividido pela quantidade de cães testados.

Os dados foram apresentados na forma de tabelas, estratificados por área urbana e rural. As diferenças foram avaliadas usando-se o teste do qui quadrado.

4. RESULTADOS

4.1 Prevalência de Leishmaniose Visceral Canina

A LVH no município de Pedro II demonstrou um aparecimento cíclico da doença nos últimos 12 anos, com uma taxa de incidência de 12,91 por 100.000 habitantes e foi considerada a taxa mais alta entre 2007 a 2019, sendo registrado um óbito⁸⁶. No que concerne à LVC neste território, do total de amostras caninas analisadas por teste rápido (n=4.276) no período de 2013 a 2019, os anos que tiveram maior quantidade de casos foram 2018 (n=278) e 2019 (n=131). A prevalência de LVC encontrada com maior percentual foi nos anos de 2018 e 2019, com o resultado de amostras positivas de 24,9% e 24,8% respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2: Testes realizados utilizando-se o Kit Dual Path Platform – DPP, separados em total, positivas, prevalência e intervalo de confiança, em Pedro II – PI, entre 2013 e 2019.

Amostras DPP	Período de notificação em anos						
	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Total	1072	200	349	400	614	1114	527
Positivas	88	40	38	23	95	278	131
Prevalência	8,2%	20,0%	10,8%	5,7%	15,4%	24,9%	24,8%
IC95%	6,6-10,0	14,7-26,2	7,8-14,6	3,6-8,5	12,7-18,5	22,4-27,6	21,2-28,7

Fonte: Secretaria Municipal de Saúde – Pedro II-PI.

Quando os dados são analisados por tipo de teste, considerando o ambiente rural e urbano, o ano com maior porcentagem de amostras positivas identificadas pelo DDP foi o 2019, na zona rural, enquanto que para o Elisa foi o ano de 2018, entretanto predominando na zona urbana (Gráfico 2).

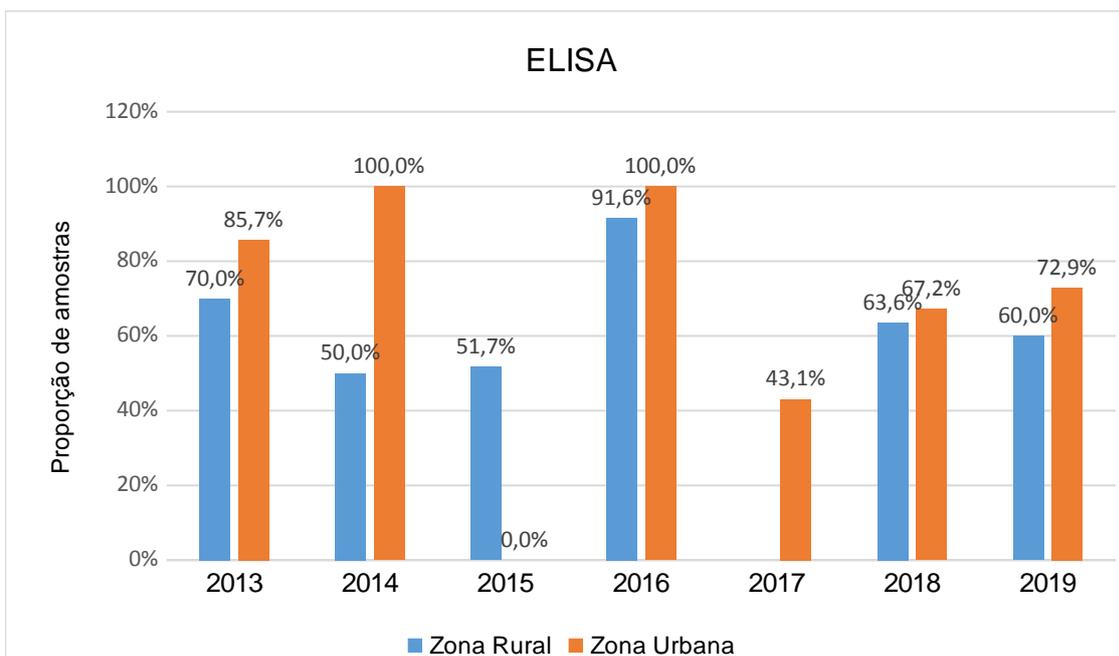
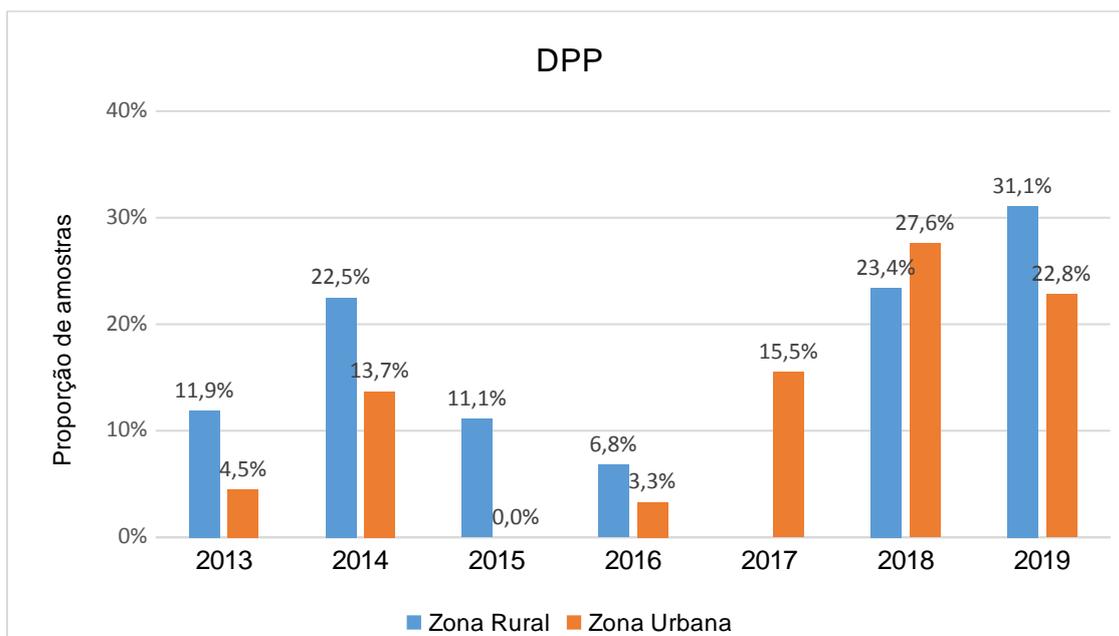


Gráfico 2: Proporção de amostras positivas para Leishmaniose Visceral Canina pelo DPP, confirmados pelo teste de Elisa, por zona urbana e rural, no município de Pedro II – PI, de 2013 a 2019. * Informação não registrada.

4.2 Análise dos testes rápidos DPP®

No período de maio de 2013 a dezembro de 2019 foram realizados 4.276 testes rápidos efetivos em Pedro II para a detecção de LVC utilizando o Kit Dual Path Platform – DPP Bio-Manguinhos. Deste total, 3.583 (83,79%) foram considerados negativos e 693 (16,21%) positivos, separados de acordo com a zona da região de coleta. Observou-se que um total de 2.132 amostras para os testes foram provenientes da zona urbana, sendo 1.799 (84,38%) negativas e 333 (15,62%) positivas, chamando a atenção para um grande número de cães infectados no perímetro urbano do município. Na zona rural foram realizados 2.144 testes, sendo 1.784 (83,21%) negativos e 360 (16,79%) positivos. Não houve diferença significativa na positividade comparando-se área rural e urbana (valor de $p = 0,29$) (Tabela 3).

Tabela 3: Comparação entre casos positivos e negativos dos testes realizados com o uso do Kit Dual Path Platform – DPP e ELISA, separados por zona em Pedro II – PI, entre 2013 e 2019.

Zona	Sorologia para teste DPP			Sorologia para teste ELISA		
	Amostras			Amostras		
	Negativa	Positiva	Total	Negativas	Positivas	Total
URBANA	1.799 (84,38%)	333(15,62%)	2132	76 (36,19%)	134 (63,81%)	210
RURAL	1.784 (83,21%)	360 (16,79%)	2144	60 (37,50%)	100 (62,50%)	160
TOTAL	3.583 (83,79%)	693 (16,21%)	4276	136 (36,76%)	234 (63,24%)	370

Fonte: Secretaria Municipal de Saúde – Pedro II-PI.

Dos 693 positivos para DPP apenas 370 realizaram o teste de ELISA. Não foi realizado o teste ELISA, em 323 amostras (devido a recusa dos donos, foram tratados, sofreram morte natural, atropelamentos e/ou outros fatores influenciadores).

Do total que realizaram o teste de ELISA foram encontrados os resultados de 136 (36,76%) negativos e 234 (63,24%) positivos. Destes, 210 foram realizados com amostras provenientes da zona urbana, totalizando 76 (36,19%)

negativos e 134 (63,81%) positivos, e na zona rural foram realizados 160 testes, sendo 100 (62,50%) positivos e 60 (37,50%) negativos ($X^2 = 0,06$; $p\text{-value} = 0,79$).

Em relação à eliminação dos cães positivos para LVC, no período entre 2013 a 2019, do total de 693 que foram triados pelo teste DPP (Tabela 3), 297 (42,8%), segundo alegação dos próprios donos, teriam sido encaminhados por eles mesmos para a eutanásia após receberem o resultado do exame realizado (tabela 4). Entre os sacrificados, 106 (35,6%) eram provenientes da zona urbana e 191 (64,4%) da rural. Ao passo que, no mesmo período, a eutanásia dos cães infectados realizada pelo setor de endemias de Pedro II foi efetivada apenas após o resultado comprobatório de positividade para LVC pelo teste de ELISA. Assim, dos 234 cães infectados, foram eutanasiados 233 (99,5%) dos quais 134 (57,5%) eram da zona urbana e 99 (42,5%) da rural (Tabela 4).

Tabela 4: Comparação entre a quantidade de cães eutanasiados após o resultado positivo dos testes realizados pelo Kit Dual Path Platform – DPP e a quantidade de cães eutanasiados após o resultado positivo do teste de ELISA, separados por zona em Pedro II.

Zona	Eutanásia dos cães positivos pós DPP (Prop*)		Eutanásia dos cães positivos pós ELISA (SEN*)	TOTAL(+) ELISA
	Positivas	Total (+) DPP	Positivas	
URBANA	106 (35,6%)	333 (48%)	134 (57,5%)	134(57,3%)
RURAL	191 (64,4%)	360 (52%)	99(42,5%)	100 (42,7%)
TOTAL	297 (42,8%)	693(100%)	233 (99,5%)	234 (100%)

Fonte: Secretaria Municipal de Saúde – Pedro II-PI

Legenda: **Prop** = Eutanásia realizado pelo proprietário do animal; **SEN** = Eutanásia realizado pelo Setor de Endemias.

Além das informações referentes aos testes DPP e ELISA, foi realizada a análise de frequência de borrifação de alfacipermetrina para eliminação das formas aladas do vetor responsável pela transmissão da LV. Foi verificado que entre 2013 e 2016 foram contempladas duas localidades na zona rural, sendo os dois locais mais borrifados: a localidade Carnaúbas, com duas aplicações em 2013 e 2014, e a localidade Lapa com apenas uma borrifação em 2014. As localidades borrifadas em 2015 foram: Santa Fé, Serra dos Matões, Santana,

São Miguel II, Tiririca, Carnaúbas, Mangabeira, São Francisco e Lapa. Em 2016, foram Areia Branca, Santa Fé, Centro, Terra Dura, São João, Carnaúbas, Mangabeira, Buritizinho, Palmeira dos Ferreiras, Tiririca, Palmeiras e Povoado Aroeira (Tabelas 5 e 6).

Tabela 5: Registro de borrifação de Alfacypermetrina em localidades e unidades domiciliares da zona rural de Pedro II – PI entre 2013 e 2019.

Anos	Localidades			Unidades domiciliares			População Atendida
	Borrifadas			Borrifadas			
	Positiva*	Negativa	Total	Positiva*	Negativa	Total	
2013	2	0	2	2	90	92	327
2014	2	0	2	2	213	215	405
2015	5	0	5	5	223	228	647
2016	2	0	2	2	83	85	208
2017	0	0	0	0	0	0	0
2018	4	-	4	-	-	317	-
2019	0	0	0	0	0	0	0

Positiva*: Localidades e unidades domiciliares que tiveram casos de LVC confirmados e foram borrifadas.

No ano de 2013 foram realizadas duas borrifações sendo uma na localidade Ingazeira II e outra na localidade Carnaúbas. No ano de 2014 ocorreu uma 2ª aplicação na localidade Carnaúbas e uma aplicação na localidade Lapa. No ano de 2015 ocorreram 5 borrifações, sendo uma em cada uma das seguintes localidades Serra dos Matões, Santana, São Miguel II, Tiririca e Carnaúbas. Em 2016 ocorreram 2 borrifações: uma na localidade Santana e outra no povoado Aroeira (Tabela 5). Em 2017 não ocorreu borrifação na zona rural. Em 2018 quatro localidades foram borrifadas, sendo elas: Lagoa do Sucuruju, Pequis, Aroeira e Ponte. Em 2019 não ocorreu borrifação na zona rural.

Tabela 6: Registro de borrifação de Alfacypermetrina em localidades e unidades domiciliares da zona urbana de Pedro II – PI entre 2013 e 2019.

Anos	Localidades			Unidades domiciliares			População Atendida
	Borrifadas			Borrifadas			
	Positiva*	Negativa	Total	Positiva*	Negativa	Total	
2013	0	0	0	0	0	0	0
2014	0	0	0	0	0	0	0
2015	2	0	2	2	94	96	260
2016	1	0	1	1	77	78	269
2017	6	-	6	-	-	863	-
2018	3	-	3	-	-	149	-
2019	1	-	1	-	-	65	-

Positiva*: Localidades e unidades domiciliares que tiveram casos de LVC confirmados e foram borrifadas.

Nos anos de 2013 e 2014 não foram realizadas borrifações na zona urbana de Pedro II. No ano de 2015 ocorreram 2 borrifações, sendo uma em cada um dos seguintes bairros: Centro e Santa Fé. Em 2016 ocorreu apenas uma borrifação no bairro Areia Branca (Tabela 6). No ano de 2017 ocorreram 6 borrifações, sendo uma em cada bairro seguinte: Areia Branca, Centro, Cristo Rei, Mutirão, Santa Fé e Vila Kolping. Em 2018 três bairros foram borrifados, sendo eles: Centro, Mutirão e Santa Fé. Em 2019 apenas um bairro foi borrifado, porém não foi possível obter-se o nome desse bairro, pois esse dado não foi inserido nos relatórios de borrifação disponíveis para consulta.

Em relação às borrifações, entre os anos de 2013 a 2016, tanto na zona urbana quanto na zona rural, os dados registrados nos relatórios do setor de endemias da prefeitura municipal de Pedro II continham informações sobre as localidades e unidades domiciliares borrifadas que tinham casos positivos e negativos e a população total atendida. Observou-se que estes dados não passaram mais a ser discriminados e quantificados nos referidos relatórios entre os anos 2017, 2018 e 2019.

5. DISCUSSÃO

O município de Pedro II, no norte do estado do Piauí, é uma região que desenvolve importantes atividades turísticas, culturais e de mineração de pedras preciosas, entre as quais a opala é a mais conhecida e comercializada. Neste ambiente, as leishmanioses se instalaram na região. De acordo com os dados do Sistema de Informação de Agravos e Notificação do Ministério da Saúde, *Sinan net*, do ano de 2007 a 2018, 10 casos de LV humana foram confirmados em Pedro II.

Ainda de acordo com o mesmo sistema de informação, neste mesmo período, 67 casos de Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) também foram confirmados em Pedro II. Após contato com o Setor de Endemias do município de Pedro II, foram repassados dados sobre a atual situação da LVC, especialmente dos anos de 2013 a 2019. Devido a LVC se tratar de um importante problema de saúde pública envolvendo o cão que é um animal doméstico, mas com comprovado potencial de reservatório para a *Leishmania*, foi decidido investir em um estudo epidemiológico no município.

Para isto, foi iniciado um estudo observacional, descritivo e retrospectivo, com coleta de dados secundários referentes a LVC, contidos nos registros do Setor de Endemias do município de Pedro II e os resultados do ELISA disponibilizadas pelo LACEN-PI por meio do sistema GAL. Foram disponibilizados dados dos anos de 2013 a 2019 para uma análise da situação da LVC no município. Os dados indicam que os casos têm ocorrido tanto na zona urbana, com 333 casos positivos para o DPP e 134 por ELISA, e na zona rural, com 360 casos positivos para DPP e 100 por ELISA, o que pode indicar um alerta para a vigilância. Foi observado, também que os testes realizados nos cães soropositivos utilizando a associação DPP (triagem) e ELISA (confirmatório), segundo protocolo utilizado, obteve-se a frequência de 90 (23,75%) de cães soropositivos utilizando DPP (triagem) e 22 (70,97%) ELISA (confirmatório). A frequência determinada somente pelo método do DPP em regiões endêmicas pode indicar que esse teste apresenta boa sensibilidade. Entretanto, nesta análise preliminar em Pedro II, no ano de 2019, observou-se que existe uma redução do número de amostras que seguem para o LACEN para a confirmação com ELISA.

Algumas das explicações apresentadas pelo Setor de Endemias de Pedro II dizem respeito sobre a qualidade do material coletado para o DPP no campo, onde em alguns casos ocorre a hemólise do sangue, não sendo encaminhado para o teste confirmatório ELISA no laboratório de referência. Esta perda prejudica as análises de concordância entre testes e outras avaliações epidemiológicas que podem desenhar um quadro melhor da LVC na região. Por outro lado, cães que tiveram um resultado positivo na triagem inicial precisam ser confirmados, para o sim ou não, para que possivelmente as zonas urbanas ou rurais não tenham animais infectados circulando como reservatório da doença.

De acordo com Schubach (2011)¹⁷⁵, o Teste DPP pode ser usado pelo Programa Nacional de Controle das Leishmanioses uma vez que sua fácil implementação e leitura auxilia nos testes sorológicos, além de ser possível utilizá-lo em amostras de sangue total nas coletas de campo. Por outro lado, o teste pode apresentar baixas sensibilidade e especificidade. Ainda segundo o mesmo autor, um resultado não reagente do teste DPP não elimina a possibilidade de o animal ter sido infectado pela *Leishmania* sp. A resposta humoral de uma infecção recente pode levar alguns meses até atingir níveis detectáveis, o que em alguns casos pode gerar um resultado falso-negativo.

A discussão sobre a eficácia dos testes empregados pelos serviços de vigilância do município é importante pois, após a confirmação por ELISA, os animais considerados positivos são recolhidos pelo Setor de Endemias para a eutanásia. Este protocolo é o recomendado pelo Ministério da Saúde e é seguido pelo Setor de Endemias de Pedro II¹⁷⁶.

No município de Pedro II, foram sacrificados entre os anos de 2013 a 2019, 233 animais com confirmação por ELISA; sendo 134 na zona urbana e 99 na rural. Por ser um procedimento polêmico e controverso, é extremamente necessário que os serviços de vigilância e controle dos municípios tenham uma estrutura de qualidade laboratorial, com testes de triagem e confirmatórios eficientes, para que não se realize eliminação desnecessária de cães pelos órgãos de saúde.

Outro fator que é preciso levar em consideração é o fato de os proprietários não permitirem a coleta de uma nova amostra de sangue para a realização do teste confirmatório de ELISA para comprovação de positividade, uma vez que a maioria destes proprietários afirmaria que apenas o teste rápido

de triagem já seria suficiente como diagnóstico final, e assim alegariam, por conta própria, ter realizado o sacrifício do animal. Este sacrifício por parte dos proprietários, além de não poder ser comprovado fielmente pela equipe do setor de endemias de Pedro II, pode ser arriscada tanto pelo aspecto ético da eutanásia de animais infectados, que deve ser realizado seguindo protocolo veterinário, quanto pelo abandono dos animais por parte dos proprietários que fazem com que haja um aumento na quantidade de animais errantes servindo como reservatório da *Leishmania*.

O teste de ELISA permite a realização de uma grande quantidade de amostras, excluindo a subjetividade da leitura ¹⁷⁷, enquanto o teste rápido TR-DPP LVC Bio-Manguinhos® utiliza membranas de nitrocelulose que são previamente impregnadas com proteínas recombinantes do parasita, como a rK39, e amostras de soro de cães suspeitos de estarem infectados ¹³². O teste de ELISA EIE LVC Bio-Manguinhos® faz uso de microplacas de poliestireno preenchidas ou sensibilizadas com antígenos em concentrações variáveis que são expostos ao soro da amostra suspeita e a um anticorpo conjugado a uma enzima, uma substância cromogênica e um substrato da enzima capaz de oxidá-la, permitindo a mudança de cor no poço da placa gerando uma leitura mediante o uso de um espectrofotômetro ⁸⁷.

O ELISA é considerado um procedimento de sensibilidade e especificidade aumentada, mostrando ser o mais adequado para uso como teste confirmatório. O Ministério da Saúde, por meio da Nota Técnica Conjunta 01/2011, substituiu o protocolo para o diagnóstico sorológico da LVC utilizado pelos serviços de saúde e vigilância dos estados, orientando a utilização do DPP® como teste de triagem e o ELISA como teste confirmatório¹⁷⁷. Faria e Andrade ¹⁷⁸ sugerem que poderão ocorrer falhas nesses resultados, causando a eliminação de um número desconhecido de animais falso-positivos. A utilização das técnicas imunocromatográficas vem expondo um amplo cenário no diagnóstico realizado em campo. Contudo, a sensibilidade dos antígenos empregados nessas técnicas ainda é um fator limitante, o que leva a crer que o uso de novos antígenos apresenta um aspecto bastante favorável para o desenvolvimento de testes de campo.

Uma grande área onde poderia-se obter diagnósticos mais precisos para LVC é a área do diagnóstico diferencial das várias fases da infecção. Sabe-se que há uma variação nas fases de infecção entre os cães. Se um teste com uma

alta especificidade para LVC pudesse ser utilizado na identificação de cães com alto poder de disseminação da LVC, por terem alta carga parasitária para flebotomíneos, este teste poderia ter maior utilidade na triagem de cães para a eutanásia, já que este procedimento apesar de controverso e discutível, tem possivelmente uma eficácia na diminuição dos casos de LVH, evitando mortes de cães desnecessárias¹⁷⁹.

O Ministério da Saúde, através do Programa de Vigilância e Controle da LV (PVC-LV) financiou, em 2010, um estudo realizado com mais de 300 mil cães em 14 municípios de quatro regiões do Brasil com a finalidade de analisar a efetividade de coleiras que foram impregnadas com deltametrina a 4%, um inseticida bastante conhecido. Os cães tiveram as coleiras colocadas entre os anos de 2012 a 2015. O referido estudo, de intervenção controlado e multicêntrico, demonstrou que o uso da coleira, juntamente com outras ações de controle preconizadas pelo PVC-LV, proporcionou uma diminuição de 50% da prevalência da LVC nas áreas de intervenção em comparação às áreas controle^{154,180}. Uma portaria datada de 09 de dezembro de 2016 do MS¹⁸¹ instituiu um grupo de trabalho que tinha como finalidade a revisão das diretrizes de vigilância e manejo de reservatórios da LV. O referido grupo recomendou a incorporação da coleira impregnada com deltametrina às demais ações de controle previstas pelo PVCLV¹⁸².

No mês de maio de 2021 o MS tornou oficial, em municípios prioritários, o emprego das coleiras impregnadas com inseticida deltametrina 4% no controle da LV em associação às demais ações previstas no PVC-LV¹⁸². O referido uso dessas coleiras nos municípios prioritários ocorrerá de forma gradual cujo prazo de adesão irá até dezembro de 2021.

Infelizmente, as estratégias de controle da LV têm se mostrado pouco efetivas, concentrando-se no diagnóstico e no tratamento dos casos humanos, na diminuição da população de flebotomíneos, na eliminação dos cães infectados e nas atividades de educação em saúde. Recomenda-se a eutanásia a todos os cães cuja sorologia ou parasitológico sejam positivos. A Resolução nº 1.000, de 11 de maio de 2012, do Conselho Federal de Medicina Veterinária¹⁷⁶ é que dispõe sobre os procedimentos e métodos de eutanásia em animais. Tal resolução preconiza que: os procedimentos de eutanásia são de exclusiva responsabilidade do médico veterinário. Esta deverá ser realizada de acordo com as legislações

municipal, estadual e federal, no que diz respeito à compra e ao armazenamento de drogas e à saúde ocupacional. Os procedimentos de eutanásia, se mal empregados, estão sujeitos à legislação federal de crimes ambientais¹⁸³.

O Ministério da Saúde adota no Brasil, como medida de controle em áreas endêmicas, a eliminação de cães positivos para *L. infantum*, pois estes são importantes reservatórios da LV. Porém há controvérsias em relação aos resultados da eutanásia canina. Sob a ótica da saúde pública as justificativas teriam fundamento nos seguintes fatores: cães domésticos seriam responsáveis pela dispersão da LV a partir de focos enzoóticos; há grande quantidade de cães assintomáticos abrigando parasitos na pele, com capacidade para transmitir a doença; e o fato de que a LV canina geralmente precede a humana. Vários estudos ratificam a tese defendida pelo PVCLV ao mostrarem que eutanásia em cães positivos diminui a quantidade de animais infectados, diminuindo consequentemente também a prevalência/incidência humana de LV¹⁹⁸. Outras pesquisas, no entanto, demonstram que: a incidência acumulada de LV humana e a soroprevalência canina não possuem correlação espacial; a coabitação humana com cães não oferece risco significativo; não houve vantagem da eutanásia isoladamente na redução da incidência de LV em seres humanos, e por fim demonstraram que outros reservatórios podem estar envolvidos na infecção de *L. infantum*. Tais reservatórios, englobariam crianças desnutridas que teriam capacidade de transmitir para outras crianças, canídeos silvestres e marsupiais¹⁵⁷.

Apesar de alguns estudos relatarem dificuldades encontradas no trabalho de campo, tais como: resistência da população em permitir a entrada de técnicos para realizarem controle químico e do reservatório canino nas unidades domiciliares; e grande rejeição da eutanásia por parte dos proprietários dos animais, bem como, da comunidade¹⁵⁷, em Pedro II, de acordo com o relato dos técnicos do setor de endemias, ocorreria um fenômeno inverso: Alguns proprietários alegam que realizam a eutanásia dos cães com o resultado do teste rápido DPP enquanto outros alegam que realizam após o exame ELISA. Os mesmos técnicos relataram que a maioria dos proprietários diz realizar a eutanásia com medo do cão infectar seus familiares e a si próprio. A comunidade também, segundo eles, compartilharia do mesmo temor de contaminação de seus moradores. Este sacrifício de cães, no entanto, não poderia ser confirmado

in loco pelos técnicos do setor de endemias de Pedro II, restando a estes como única opção acreditar nos relatos dos proprietários dos animais.

Os técnicos relataram algumas dificuldades enfrentadas por eles que dificultaria a execução dos procedimentos de eutanásia dos cães positivos para LVC. Uma delas seria a intervenção de médicos veterinários particulares que, juntamente com ONGs protetoras de animais estariam questionando a qualidade dos exames sorológicos realizados e estariam inclusive ameaçando entrar com ações judiciais. Esta falta de consenso, de como finalizar este tipo de situação, tem causado divergências para ambos os lados. Por um lado, se entende que a eutanásia é uma situação extremamente delicada, por se tratar de eliminar um animal que na maioria das vezes faz parte do convívio e do carinho familiar. Por outro lado, estão os profissionais de saúde que trabalham com endemias e necessitam exercer as suas atividades, na maioria das vezes sem estrutura e condições trabalho, com receio de uma judicialização das suas tarefas. Este tema precisa ser mais discutido entres as autoridades sanitárias para que outras alternativas sejam testadas e implementadas, como tratamento e vacinas para os cães. Desta maneira se evitaria o trauma que ocorre para ambos que é a eliminação dos animais considerados positivos para *Leishmania*.

Um outro aspecto importante são os dados relacionados as borrifações no município de Pedro II. Analisando-se os dados de borrifação verificou-se que nos anos de 2013 a 2016 houve aplicações tanto na zona rural quanto na zona urbana. Entretanto, nos anos 2017 e 2019, na zona rural, não foram feitas aplicações. Estas voltaram a ser realizadas apenas no ano de 2018 com um total de 04 aplicações. Chama atenção o fato de 2018 ter sido o ano com maior quantidade de amostras positivas identificadas pelo DPP na zona rural (23,4%), necessitando, portanto, de uma atenção maior por parte dos agentes de endemias no controle vetorial. O mesmo ocorreu no ano de 2017. De maneira parecida, o ano de 2019 também apresentou uma quantidade grande de amostras positivas identificadas pelo DPP, na zona rural (31,1%), não sendo realizado borrifações para o controle do vetor. Embora tenham ocorrido borrifações em 2018 (4 aplicações), essas aplicações podem não ter sido efetivas o suficiente.

Outro fato observado em relação às borrifações foi que, entre os anos de 2013 a 2016, tanto na zona urbana quanto na zona rural, os dados registrados

nos relatórios do setor de endemias da prefeitura municipal de Pedro II, continham informações sobre as localidades e unidades domiciliares borrifadas que tinham casos positivos e negativos da população total atendida. Observou-se que estes dados não passaram mais a ser discriminados e quantificados nos referidos relatórios entre os anos 2017, 2018 e 2019. O controle vetorial através da aplicação de inseticida é uma alternativa aceitável e utilizada pelos profissionais de saúde nos municípios brasileiros onde existem casos e a presença do flebótomo^{182,184}. Novamente voltamos para o problema da aceitação por parte dos donos das residências onde o produto deve ser aplicado. Existe um percentual de recusa considerado alto, relatado, mas não registrado pelos funcionários do controle de zoonoses do município de Pedro II, que terminam borrifando nos peridomicílios, e não dentro das casas onde provavelmente estão os flebotomíneos, mantendo assim o ciclo de transmissão da doença.

O presente estudo evidencia um antigo problema de saúde pública no estado do Piauí, que é a LV, mas relativamente novo no município de Pedro II. Existe um sério problema em confirmar o diagnóstico da LVC na cidade, pois os profissionais relatam problemas em obter de maneira satisfatória o soro dos animais que foram testados positivos no pré teste com DDP, para serem confirmados com o teste ouro que é o ELISA. Caso o animal continue positivo, segundo o protocolo, deverá ser entregue ao CCZ local para a eutanásia. Este procedimento tem causado problemas por motivos já discutidos aqui e deve ser abordado pelos profissionais de saúde responsáveis pelo tema. Salientamos que, outras maneiras de controle devem ser exploradas, como a busca de drogas para o tratamento e vacinas. A borrifação tem sido utilizada no município, mas, de maneira irregular no decorrer dos anos. Isto provavelmente não tem tido o impacto esperado no controle da LV na cidade de Pedro II, no estado do Piauí.

Discute-se a necessidade de adotar políticas que envolvam ações de educação em saúde, manejo ambiental e compreensão dos conceitos básicos da doença, como elementos necessários para o sucesso de um programa integrado de saúde, vigilância entomológica e controle da LVH e LVC no estado do Piauí, assim como, em todo território nacional.

6. PERSPECTIVAS

A principal motivação deste trabalho é contribuir para um melhor entendimento da LV, especialmente canina, no município de Pedro II, no estado do Piauí, de forma a contribuir para o aprimoramento das ações de controle da doença. Essa contribuição também poderá ser estendida para o Piauí como um todo e até para o Brasil, considerando que muitas das dificuldades operacionais enfrentadas no cotidiano dos programas de controle da LV são, de certa forma, comuns às diferentes regiões do país. Novos estudos virão complementar este estudo, tendo em vista que se trata de uma doença muito dinâmica e que apresenta condições de disseminação no município de Pedro II, podendo provocar danos à saúde da população, mas também à economia e ao turismo local.

Este trabalho vai ser complementado por outros que pretendemos realizar na região. Nestes estudos, gostaríamos de ampliar o número de comunidades abrangidas e pesquisar mais aspectos que possam contribuir para a manifestação da LVC no município de Pedro II.

7. CONCLUSÕES

- O ano com maior porcentagem de amostras positivas identificadas pelo DDP foi o 2019, na zona rural, enquanto que para o Elisa foi o ano de 2018, entretanto predominando na zona urbana;
- Observou-se que das amostras positivas no DPP realizadas em Pedro II, apenas 54% foram encaminhadas para o Lacen-PI para realização do teste confirmatório ELISA;
 - Verificou-se que nos anos 2017 e 2019, na zona rural, não foram realizadas borrições. No ano de 2018 ocorreram apenas 04 borrições. Chama atenção o fato de 2018 ter sido o ano com maior quantidade de amostras positivas identificadas pelo DPP na zona rural. O mesmo ocorreu nos anos de 2017 e 2019. Embora tenham ocorrido borrições em 2018 (4 aplicações), essas aplicações podem não ter sido efetivas o suficiente;
 - Em relação à distribuição da LVC, segundo o tipo de teste, considerando o ambiente rural e urbano, o ano com maior porcentagem de amostras positivas identificadas pelo DDP foi o 2019, na zona rural, enquanto que para o Elisa foi o ano de 2018, entretanto predominando na zona urbana;
 - A borrição tem sido utilizada no município, como medida de controle, mas, de maneira irregular no decorrer dos anos. Isto provavelmente não tem tido o impacto esperado no controle da LV na cidade de Pedro II, no estado do Piauí. A eutanásia canina, apesar das controvérsias e polêmicas, é uma prática também realizada pelos profissionais da saúde seguindo protocolo e após confirmação pelo teste ELISA.

8. REFERÊNCIAS

1. WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. Leishmaniasis – Fact Sheets. 20 de maio de 2021. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/leishmaniasis>. Acessado em: 07 julho 2021.
2. MARZOCHI, M. C. A.; COUTINHO, S. G.; SOUZA, W. J.; AMENDOEIRA, M.R. Leishmaniose Visceral (Calazar). *Jornal Brasileiro de Medicina*, v. 41, n. 5, p. 6184, 1981.
3. ZIJLSTRA, E.E.; EL-HASSAN, A. M. Leishmaniasis in Sudan. 3. Visceral leishmaniasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 95, n. Supplement_1, p. S27-S58, 2001.
4. ALBUQUERQUE, M. et al. Resenha histórica da leishmaniose. Internet, Rio de Janeiro, Departamento de Bioquímica-Fiocruz, 1996.
5. MIGONE, L. E. Un caso de kala-azar à Asuncion (Paraguay). *Bull SocPatholExotique*, v..6, n.2, p.118-20, 1913.
6. MAZZA, S.; CORNEJO, A. J. Primeiros casos autóctones de kala-azar infantil comprovados en el Norte de la Republica. *Boletim del Instituto Clinico Quirurgico*, v. 11, p. 140-144, 1926.
7. Brasil. Ministério da Saúde. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose visceral. Brasília: Ministério da Saúde. 2014.
8. PENNA, H. A. Leishmaniose visceral no Brasil. *O Brazil-Medico*, Rio de Janeiro, v. 46, p. 949-952, 1934.
9. ALENCAR, J.E.; Leishmaniose Visceral no Brasil. *Revista de Medicina da Universidade Federal do Ceará*, v.17/18, p.129-148, 1978.
10. LAINSON, R.; SHAW, J. J. Evolution, classification and geographical distribution. In: PETERS, W; KILLICK-KENDRICK, R. *The leishmaniasis in biology and medicine, Biology and epidemiology*. Academic Press: London, v. 1, p. 1-120, 1987.
11. STRICKLAND, G. *Hunter's Tropical Medicine and emerging infectious diseases*. 8.ed. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 2000. 1192 p.
12. LUKES, J. et al. Evolutionary and geographical history of the *Leishmania donovani* complex with a revision of current taxonomy. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*, v. 104, p. 9735-9380, 2007.

13. MAURÍCIO, I. L.; STOTHARD, J. R.; MILES, M.A. The strange case of *Leishmania chagasi*. *Parasitol Today*, v.16, n.5, p.188-189, 2000.
14. BAGUES, N.C.T. et al. Parasitic load and histological aspects in different regions of the spleen of dogs with visceral leishmaniasis. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, v. 56, p. 14–19, 2018.
15. CHATZIS, M. et al. Cytological and molecular detection of *Leishmania infantum* in different tissues of clinically normal and sick cats. *Veterinary Parasitology*, v. 202, p. 217-225, 2014.
16. DEANE, L. M.; DEANE, M. P. Encontro de leishmanias nas vísceras e na pele de uma raposa, em zona endêmica de calazar, nos arredores de Sobral, Ceará. *O hospital*, v. 45, n. 4, p. 419-421, 1954.
17. ROQUE, A. L.R.; JANSEN, A. M. Wild and synanthropic reservoirs of *Leishmania* species in the Americas. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, v. 3, n. 3, p. 251-262, 2014.
18. MARTINS, G. S. Perfil epidemiológico da leishmaniose visceral no Tocantins de 2009 a 2018. *Revista de Patologia do Tocantins*, v. 7, n. 3, p. 41-46, 2020.
19. Brazil RP. A dispersão de *Lutzomyia longipalpis* em áreas urbanas. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2013; 46 (3). <http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0101-2013>
20. GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 7, n. 3, p. 338- 349, 2004.
21. CORTEGIANO, B. M.; CHUCRI, T. M. Prevalência da leishmaniose visceral canina no HovetUnimes em Santos-SP. *Brazilian Journal of Development*, v. 6, n. 7, p. 48594-48602, 2020.
22. ALVAR, J. et al. Leishmaniasis world wide and global estimates of its incidence. *PloS one*, v. 7, n. 5, p. e35671, 2012.
23. MEGID, J.; RIBEIRO, M. G; PAES, A. Carlos. *Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia*. Roca: Rio de Janeiro, 2016.
24. BENASSI, J. C. et al. Molecular and serological detection of *Leishmania* spp. in horses from an endemic area for canine visceral leishmaniasis in southeastern Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 38, n. 6, p. 1058-1063, 2018.
25. PENNISI, M. G. Leishmaniosis of companion animals in Europe: an update. *Veterinary parasitology*, v. 208, n. 1-2, p. 35-47, 2015.
26. SOARES, C. S. Alves; DUARTE, S. C.; SOUSA, S. R. What do we know about feline leishmaniosis? *Journal of feline medicine and surgery*, v. 18, n. 6, p. 435-442, 2016.

27. BORJA, L. S. et al. Parasite load in the blood and skin of dogs naturally infected by *Leishmania infantum* is correlated with their capacity to infect sand fly vectors. *Veterinary parasitology*, v. 229, p. 110-117, 2016.
28. BRITO, V. N. et al. Phlebotomine fauna, natural infection rate and feeding habits of *Lutzomyia cruzi* in Jaciara, state of Mato Grosso, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 109, n. 7, p. 899-904, 2014.
29. GALATI, E. A. B. Classificação de Phlebotominae. In: RANGEL, E. F.; LAINSON R. (Org.). *Flebotomíneos do Brasil*, Rio de Janeiro: FIOCRUZ, p. 23-51, 2003.
30. ALMEIDA, P. et al. Espécies de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) coletadas em ambiente urbano em municípios com transmissão de Leishmaniose Visceral do Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 54, n.2, p. 304-310, 2010.
31. SHIMABUKURO, P. H. F.; GALATI, E. A. B. Lista de espécies de Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) do Estado de São Paulo, Brasil, com comentários sobre sua distribuição geográfica. *Biota Neotropica*, v. 11, p. 685-704, 2011.
32. READY, P. D. Biology of phlebotomine sand flies as vectors of disease agents. *Annual review of entomology*, v. 58, 2013.
33. ARAUJO, E.; SILVA, R.; HONER, M. Comportamento de *Lutzomyia longipalpis*, vetor principal da leishmaniose visceral americana, em Campo Grande, Estado do Mato Grosso do Sul. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 40, n. 4, p. 420-425, 2007.
34. VIEIRA, V. Estudo sobre a ecologia dos flebotomíneos (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) em ambientes de grande ação antrópica e silvestre, da orla marítima dos Estados do Rio de Janeiro e São Paulo, Brasil. 2019. Tese de Doutorado (Doutorado em Biodiversidade e Saúde) – Fundação Oswaldo Cruz - Fiocruz.
35. LAINSON, R.; RANGEL, E. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil: a review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 100, n. 8, p. 811-827, 2005.
36. DOS SANTOS, S. et al. Incrimination of *Lutzomyia cruzi* as a vector of American visceral leishmaniasis. *Medical and veterinary entomology*, v. 12, n. 3, p. 315-317, 1998.
37. TRAVI, B. L. et al. *Lutzomyia evansi*, an [alternative] vector of *Leishmania chagasi* in a Colombian focus of visceral leishmaniasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 84, n. 5, p. 676-677, 1990.

38. FORATTINI, Oswaldo Paulo. Entomologia Médica: Psychodidae, Phlebotominae, leishmanioses, bartonelose. São Paulo, Ed. Edgard Blücher/ Ed. Univ. São Paulo, 1973. v. 4, 658 p.
- 39.SOUZA, N.A. et al. Nocturnal activity rhythms of *Lutzomyia intermedia* and *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae) in a transmission area of American cutaneous leishmaniasis in Rio de Janeiro State, Brazil. *Journal of medical entomology*, v. 42, n. 6, p. 986-992, 2005.
- 40.MANSOUR, C. K. Investigação e documentação de flagelos no tubo digestório de flebotomíneos. 2018. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Entomologia em Saúde Pública. São Paulo.
- 41.MAROLI, M. et al. Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern. *Medical and veterinary entomology*, v. 27, n. 2, p. 123-147, 2013.
- 42.OLIVEIRA-PEREIRA, Y. N.; MORAES, J. L. P.; LOROSA, E. S.; REBÊLO, J. M.M. Preferência alimentar sanguínea de flebotomíneos da Amazônia do Maranhão, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 24, p. 2183-2186, 2008.
- 43.COURTENAY, O.; PETERS, N. C.; ROGERS, M. E.; BERN, C. Combinando epidemiologia com biologia básica de flebotomíneos, parasitas e hospedeiros para informar a dinâmica e o controle da transmissão da leishmaniose. *Patógenos PLoS*, v. 13, n.10, p. e1006571, 2017.
- 44.ROCHA, S. T. F.; SHIOSI, R. K.; FREITAS, A. B. M. Canine visceral leishmaniasis-literature review. *R. cient. eletr. Med. Vet.*, n. 34, p. 13, 2020.
- 45.CDC - CENTERS OF DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Parasites – Leishmaniasis: Epidemiology and risk factors. Global Health, Division of Parasitic Diseases and Malaria, 2020. Disponível em: <http://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/epi.html>. Acesso em: 20 dez. 2020.
- 46.BRASIL. Conselho Federal de Medicina Veterinária - CFMV. Guia de Bolso Leishmaniose Visceral. Comissão Nacional de Saúde Pública Veterinária do Conselho Federal de Medicina Veterinária, Comissão Nacional de Saúde Pública Veterinária – 1. ed., Brasília - DF: CFMV, 2020b.
- 47.ARAÚJO, T. F. et al. Phenotype evaluation of human and canine isolates of *Leishmania infantum*. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, v. 73, p. 101551, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2020.101551>. Acesso em: 2 jan. 2021.
- 48.CHANMOL, W. et al. Axenic amastigote cultivation and in vitro development of *Leishmania orientalis*. *Parasitology research*, v. 118, n. 6, p. 1885-1897, 2019.

- 49.LAWYER, P. G. et al. Development of *Leishmania major* in *Phlebotomus duboscqi* and *Sergentomyia schwetzi* (Diptera: Psychodidae). *The American journal of tropical medicine and hygiene*, v. 43, n. 1, p. 31-43, 1990.
- 50.HSIAO, C. H. et al. The major surface protease (MSP or GP63) in the intracellular amastigote stage of *Leishmania chagasi*. *Molecular and biochemical parasitology*, v. 157, n. 2, p. 148-159, 2008.
- 51.KHAN, Y. A.; ANDREWS, N. W.; MITTRA, B. ROS regulate differentiation of visceralizing *Leishmania* species into the virulent amastigote form. *Parasitology open*, v. 4, 2018.
- 52.SUNTER, J.; GULL, K. Shape, form, function and *Leishmania* pathogenicity: from textbook descriptions to biological understanding. *Open biology*, v. 7, n. 9, p. 170165, 2017.
- 53.GALATI, E. A. et al. An illustrated guide for characters and terminology used in descriptions of Phlebotominae (Diptera, Psychodidae). *Parasite*, v. 24, n. 26, p. 1-35, 2017.
- 54.TOMIOTTO-PELLISSIER, F. et al. Macrophage Polarization in Leishmaniasis: Broadening Horizons. *Frontiers in immunology*, v. 9, p. 2529, 2018.
- 55.WALTERS, L. L. *Leishmania* differentiation in natural and unnatural sand fly hosts. *J Eukaryot Microbiol*, v. 40, n. 2, p. 196-206,1993.
- 56.HURRELL, B. P.; REGLI, I. B.; TACCHINI-COTTIER, F. Different *Leishmania* species drive distinct neutrophil functions. *Trends in parasitology*, v. 32, n. 5, p. 392-401, 2016.
- 57.KUPANI, M.; PANDEY, R. K.; MEHROTRA, S. Neutrophils and Visceral Leishmaniasis: Impact on innate immune response and cross-talks with macrophages and dendritic cells. *J Cell Physiol*, p. 1-13, 2020.
- 58.SANTOS-GOMES, G. M.; ABRANCHES, P. Comparative study of infectivity caused by promastigotes of *Leishmania infantum* MON-1, *L. infantum* MON-24 and *L. donovani* MON-18. *Folia Parasitol (Praha)*, v. 43, n. 1, p. 7-12, 1996.
- 59.ELTOUM, A. I. et al. Congenital kala-azar and leishmaniasis in the placenta. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, v. 46, n. 1, p. 57-62, 1992.
- 60.ARGY, N. et al. Congenital Leishmaniasis in a Newborn Infant Whose Mother was Coinfected with Leishmaniasis and HIV. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*, v. 9, n. 2, p. 277-280, 2020.

61. TOEPP, A. J. et al. Maternal *Leishmania infantum* infection status has significant impact on leishmaniasis in offspring. *PLoS neglected tropical diseases*, v. 13, n. 2, p. e0007058, 2019.
62. BERGER, B. A.; BARTLETT, A. H.; SARAVIA, N. G.; GALINDO, G. N. Pathophysiology of *Leishmania* Infection during pregnancy. *Trends in parasitology*, v. 33, n. 12, p. 935-946, 2017.
63. SYMMERS, W. S. C. Leishmaniasis acquired by contagion: a case of marital infection in Britain. *Lancet*, v. 16, n. 1, p. 127- 132, 1960.
64. NAUCKE, T. J.; LORENTZ, S. First report of venereal and vertical transmission of canine leishmaniosis from naturally infected dogs in Germany. *Parasites & Vectors*, v. 5, n. 67, p. 1-5, 2012.
65. SILVA, F. L. et al. Venereal transmission of canine visceral leishmaniasis. *Vet. Parasitol.*, v. 160, n. 1-2, p. 55-59, 2009.
66. MUNÓZ, P.; FERNANDÉZ, N. S.; FARINÃS, M. C. Epidemiology and risk factors of infections after solid organ transplantation. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, v. 30, n. 2, p. 10-18, 2012.
67. MORILLAS-MARQUEZ, F. et al. *Leishmania infantum* (Protozoa, kinetoplastida): transmission from infected patients to experimental animal under conditions that simulate needle-sharing. *Experimental parasitology*, v. 100, n. 1, p. 71-74, 2002.
68. SILVA, L. P. et al. Asymptomatic *Leishmania* infection in blood donors from a major blood bank in Northeastern Brazil: a cross-sectional study. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 62, 2020.
69. DE OLIVEIRA FRANÇA, A. et al. Viability of *Leishmania* in blood donors: A tangible possibility of transfusion transmission. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, v. 53, n. 1, p. 176-178, 2020.
70. MILLER, E. et al. Quantifying the contribution of hosts with different parasite concentrations to the transmission of visceral leishmaniasis in Ethiopia. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, v. 8, n. 10, p. e3288, 2014.
71. KELLY, P. H. et al. The Gut Microbiome of the Vector *Lutzomyia longipalpis* Is Essential for Survival of *Leishmania infantum*. *MBio*, v. 8, n. 1, 2017.
72. LAURENTI, M. D. et al. Asymptomatic dogs are highly competent to transmit *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* to the natural vector. *Veterinary parasitology*, v. 196, n. 3-4, p. 296-300, 2013.
73. COSTA, A. T. et al. Ecology of phlebotomine sand flies in an area of leishmaniasis occurrence in the Xakriabá Indigenous Reserve, Minas Gerais, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 52, 2019.

- 74.CURI, N. H. A. et al. Factors associated with the seroprevalence of leishmaniasis in dogs living around Atlantic Forest fragments. *PloSone*, v. 9, n. 8, p. e104003, 2014.
- 75.DA COSTA, A. P. et al. Environmental factors and ecosystems associated with Canine Visceral Leishmaniasis in Northeastern Brazil. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, v. 15, n. 12, p. 765-774, 2015.
- 76.TRAVI, B. L. et al. Gender is a major determinant of the clinical evolution and immune response in hamsters infected with *Leishmania* spp. *Infection and Immunity*, v. 70, n. 5, p. 2288-2296, 2002.
- 77.ALVAR, J. et al. Canine leishmaniasis. *Advances in Parasitology*, v. 57, p. 1-88, 2004.
- 78.BEVILACQUA, P.D.; PAIXÃO, H. H.; MODENA, C. M.; CASTRO, M. C. P. S. Urbanização da leishmaniose visceral em Belo Horizonte, arq. bras. med. vet. zootec., v.53, n. 1, p.1-8, 2001.
- 79.OLIVEIRA, S. S.; ARAÚJO, T. M. Evaluation of control measures for visceral leishmaniasis (kala azar) in an endemic area in Bahia, Brazil (1995-2000). *Cadernos de saude publica*, v. 19, n. 6, p. 1681-1690, 2003.
- 80.ALVES, W. A.; BEVILACQUA, P. D. Quality of diagnosis of canine visceral leishmaniasis in epidemiological surveys: an epidemic in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, 1993-1997. *Cadernos de saude publica*, v. 20, n. 1, p. 259-265, 2004.
- 81.WERNECK, G. L. et al. Avaliação da efetividade das estratégias de controle da leishmaniose visceral na cidade de Teresina, Estado do Piauí, Brasil: resultados do inquérito inicial – 2004. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, v. 17, n. 2, p. 87-96, 2008.
- 82.COSTA, C. H. N.; PEREIRA, H. F.; ARAÚJO, M. V. Epidemia de leishmaniose visceral no Estado do Piauí, Brasil, 1980-1986. *Revista de Saúde Pública*, v. 24, n. 5, p. 361-372, 1990.
- 83.HARHAY, M. O.; OLLIARO, P. L.; COSTA, D. L.; COSTA, C. H. Urbanparasitology: visceral leishmaniasis in Brazil. *Trends Parasitol.*, v. 27, n. 9, p. 403–409, 2011.
- 84.Carranza-Tamayo, C. O. et al. Leishmaniose visceral autóctoneem Brasília, Distrito Federal, Brasil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* v.43 (4),2010.
- 85.TONINI, M. A. et al. First description of autochthonous canine visceral leishmaniasis in the metropolitan region of Vitória, State of Espírito Santo, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.*, v. 45, n. 6, p. 754-756, 2012.

86.BRASIL - Ministério da Saúde/SVS. Sistema de informação de agravos de notificação - Sinan Net. Casos confirmados por ano notificação segundo UF de infecção: Período: 2019. Disponível em:<<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/leishvbr.def>>2019. Acesso em: 23 dez. 2020a.

87.BRASIL. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 1. ed., 5. reimpr. – Brasília: Ministério da Saúde, 2014. 120 p.: il

88.SILVA, S. C. P. Impacto do uso de coleiras impregnadas com deltametrina a 4% na prevenção da leishmaniose visceral canina, no município de Juatuba, Minas Gerais. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, 2017.

89.BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Letalidade de leishmaniose visceral: Brasil, grandes regiões e unidades federadas, 2000 a 2011. Brasília: Ministério de Saúde, 2012.

90.LAURENTI, M. D. Patologia e patogenia das leishmanioses. 2010. 140 f. Tese (Obtenção do título de Professor Livre-Docente) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2010. Disponível em: https://teses.usp.br/teses/disponiveis/livredocencia/10/tde-26112010105228/publico/Tese_LD_Marcia_Dalastra_Laurenti_2010_A.pdf. Acesso em: 21 abr. 2018.

91.RONDON NETO, E. et al. Detecção de Infecção Natural em flebotomíneos capturados em área urbana de Campo Grande. Anuário de Produção de Iniciação Científica Discente, v. 14, n. 24, 2011.

92.INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Cidades. Disponível em <<http://www.cidades.ibge.gov.br/xtras/home.php>>. Acesso em 19 de jan. de 2021.

93.MENDES, W.; TROVÃO, J. R.; SILVA, A. A. M. Dinâmica da ocupação do espaço na Cidade de São Luís e a leishmaniose visceral. Cadernos de Saúde Pública, v. 16, p. 872-872, 2000.

94.MONTEIRO, É. M.et al. Leishmaniose visceral: estudo de flebotomíneos e infecção canina em Montes Claros, Minas Gerais. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 38, n. 2, p. 147-152, 2005.

95.SANTOS, G. M. et al. Aspectos epidemiológicos e clínicos da leishmaniose visceral no estado do Piauí, Brasil. C&D RevEletron FAINOR, v. 10, p. 142-153, 2017.

- 96.MAIA-ELKHOURY, A.N. S. et al. Visceral leishmaniasis in Brazil: trends and challenges. *Cadernos de saude publica*, v. 24, p. 2941-2947, 2008.
97. OPAS - Organização Pan-Americana da Saúde. *Leishmanioses: Informe Epidemiológico nas Américas*. Washington. 2018. Disponível em ><https://www.paho.org/pt/node/64404>
- 98.RODRIGUES, F. R.; DE SOUSA, V. C.; DE OLIVEIRA, E. H. Análise do perfil epidemiológico dos casos de leishmaniose visceral no estado do Piauí no período de 2009 a 2018. *Research, Society and Development*, v. 9, n. 11, p. e489119170e489119170, 2020.
- 99.DOS SANTOS, J. P., DIAS, T. P., LIMA, D. W. G., MENDONÇA, I. L. Leishmaniose visceral no município de Bom Jesus, Piauí, Brasil. *Acta VeterinariaBrasilica*, v. 8, n. 4, p. 236-241, 2014.
- 100.NUNES FILHO, J. M. et al. Leishmaniose visceral na cidade de Valença do Piauí: um problema de saúde pública. *PUBVET*, v. 9, p. 429-466, 2015.
- 101.CAVALCANTE, O. L. et al. Aspectos da incidência de leishmaniose visceral humana e canina no município de Floriano/PI, Brasil. *Rev. Espacios*, v. 38, n. 8, p. 20-26, 2017.
- 102.CARVALHO, C. A. O papel do APL da opala de Pedro II, Piauí, na estruturação do turismo mineral do município. 2015. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. Escola de Artes Ciências e Humanidades, 2015.
- 103.NASCIMENTO, L., ANDRADE, E.B. Epidemiologia da leishmaniose canina no município de Pedro II, Piauí, entre os anos de 2013 e 2019. *Pesquisa e Ensino em Ciências Exatas e da Natureza*, v.5: p.e1623,2021. <http://dx.doi.org/10.29215/pecen.v5i0.1623>
- 104.MONTEIRO, P. S.; LACERDA, M. M.; ARIAS, J. R. Controle da leishmaniose visceral no Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 27, n. supl III, p. 67-72, 1994.
- 105.CASTRO, G. N. Leishmaniose visceral humana e canina no município de Imperatriz, Maranhão, Brasil. Tese de Doutorado. Universidade Técnica de Lisboa. Faculdade de Medicina Veterinária, 2008.
- 106.QUINTANA, M. G. et al. Multiscale environmental determinants of *Leishmania* vectors in the urban-rural context. *Parasites & vectors*, v. 13, n. 1, p. 1-15, 2020.
- 107.ANDRADE, A. R. O. et al. Phlebotomine fauna in the Ponta Porã city: epidemiological importance in border line between Brazil and Paraguay. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, v. 2, n. 5, p. 362–366, 2012.

108. ANVERSA, L.; TIBURCIO, M. G. S.; RICHINI-PEREIRA, V. B.; RAMIREZ, L. E. Human leishmaniasis in Brazil: A general review. *Rev. Assoc. Med. Bras.*, v. 64, n. 3, p. 281-289, 2018.
109. DE VASCONCELOS, T. C. B. et al. Canine susceptibility to visceral leishmaniasis: A systematic review upon genetic aspects, considering breed factors and immunological concepts. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 74, p. 103293, 2019.
110. PÉREZ-CABEZAS, B. et al. Understanding resistance vs. susceptibility in Visceral Leishmaniasis using mouse models of *Leishmania infantum* infection. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, v. 9, p. 30, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00030>. Acesso em: 8 dez. 2020.
111. AKUFFO, H. et al. New insights into leishmaniasis in the immunosuppressed. *PLoS neglected tropical diseases*, v. 12, n. 5, p. e0006375, 2018.
112. REY, L. C.; MARTINS, C. V.; RIBEIRO, H. B.; LIMA, A. A. Leishmaniose visceral americana (calazar) em crianças hospitalizadas de área endêmica. *Jornal de Pediatria*, v. 81, n. 1, p. 73-78, 2005.
113. HORRILLO, L. et al. Clinical aspects of visceral leishmaniasis caused by *L. infantum* in adults. Ten years of experience of the largest outbreak in Europe: what have we learned? *Parasites & vectors*, v. 12, n. 1, p. 359, 2019.
114. MALEK, M. S. et al. Clinical and hematological features of visceral leishmaniasis at Mymensingh Medical College Hospital. *Mymensingh Medical Journal: MMJ*, v. 29, n. 4, p. 879-886, 2020.
115. ORTIZ, M. et al. Glomerulonephritis and cryoglobulinemia: first manifestation of visceral leishmaniasis. *Clinical nephrology*, v. 83, n. 6, p. 370-377, 2015.
116. RINALDI, F. et al. Focal spleen lesions in visceral leishmaniasis, a neglected manifestation of a neglected disease: report of three cases and systematic review of literature. *Infection*, v. 47, n. 4, p. 507-518, 2019.
117. KERAMATI, M. R.; KHOOEI, A.; AELAMI, M. H. Visceral leishmaniasis with massive hematemesis and peripheral blood involvement. *Clinical laboratory*, v. 59, n. 3-4, p. 425-427, 2013.
118. PRESTES-CARNEIRO, L. E. et al. Unusual manifestations of visceral leishmaniasis in children: a case series and its spatial dispersion in the western region of São Paulo state, Brazil. *BMC infectious diseases*, v. 19, n. 1, p. 70, 2019.
119. PAPADOGIANNAKIS, E. I.; KOUTINAS, A. F. Cutaneous immune mechanisms in canine leishmaniosis due to *Leishmania infantum*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v. 163, n. 3-4, p. 94-102, 2015.

120.FEITOSA, M. M. et al. Avaliação liquórica de cães, com e sem sintomatologia neurológica, naturalmente acometidos por leishmaniose visceral. *Veterinária Notícias*, v. 11, n. 2, 2005.

121.FOGANHOLI, J. N.; ZAPPA, V. Importância da leishmaniose na saúde pública. *Revista científica eletrônica de medicina veterinária*, v. 9, n. 17, p. 1-45, 2011.

122.SILVA J. N. et al. Parâmetros reológicos e imunohematológicos na leishmaniose visceral canina. *Rev. Bras. Parasitol.Vet.*, vol. 27, n. 2, p. 211-217, 2018.

123.SONODA, M. C. Leishmaniose visceral canina: aspectos clínicos-epidemiológicos de casos atendidos no período de 1997 a 2007, no Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. Dissertação [Mestrado] Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2007. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10136/tde-12122007-171752/pt-br.php>. Acesso em: 20 dez. de 2020.

124.BRASIL. Guia de orientação para vigilância de leishmaniose visceral canina (LVC). Diretoria de Vigilância Epidemiológica, Gerência de Vigilância de Zoonoses, Divisão de Vetores, Reservatórios e Hospedeiros, Laboratório Central de Saúde Pública, Gerência de Biologia Médica. Santa Catarina, 2015.

125.BURBACH, G.; MAY, J.; HARMS, G.; BIENZLE, U. Basic principles, clinical aspects, diagnosis and therapy. *Deutsche medizinische Wochenschrift* (1946), v. 124, n. 4, p. 88, 1999.

126.MILLER, C. E.; BAIN, B. J. The utility of blood and bone marrow films and trephine biopsy sections in the diagnosis of parasitic infections. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*, v. 7, n. 1, 2015.

127.THAKUR, S.; JOSHI, J.; KAUR, S. Leishmaniasis diagnosis: an update on the use of parasitological, immunological and molecular methods. *Journal of Parasitic Diseases*, p. 1-20, 2020.

128.RIBEIRO, V. M. et al. Performance of different serological tests in the diagnosis of natural infection by *Leishmania infantum* in dogs. *Veterinary parasitology*, v. 274, p. 108920, 2019.

129.DE OLIVEIRA, L. S. et al. A utilização da imunofluorescência indireta no diagnóstico de rotina da leishmaniose visceral canina e suas implicações no controle da doença. *Ciência Animal Brasileira*, v. 6, n. 1, p. 41-47, 2005.

130.SANTOS, A. P. D.; CARVALHO, M. E.; MEIRELLES, L. R.; ANDRADE JUNIOR, H. F. Effect of chaotropes in Chagas disease and leishmaniasis cross-

reacting serology assays for epidemiological surveys. *Rev Soc Bras Med Trop.*, v. 51, n. 5, p. 665-669, 2018.

131.LOPES, E. G. et al. Serological and molecular diagnostic tests for canine visceral leishmaniasis in Brazilian endemic area: one out of five seronegative dogs are infected. *Epidemiol Infect.*, v. 145, n. 12, p. 2436-2444, 2017.

132.RIBEIRO, R. R. et al. Canine Leishmaniasis: An Overview of the Current Status and Strategies for Control. *BioMed research international*, v. 2018, 2018.

133.GALLUZZI, L. et al. Real-time PCR applications for diagnosis of leishmaniasis. *Parasites & Vectors*, v. 11, n. 1, p. 273, 2018.

134.SUKIASYAN, A. et al. Re-Emerging foci of visceral leishmaniasis in Armenia—first molecular diagnosis of clinical samples. *Parasitology*, v. 146, n. 7, p. 857-864, 2019.

135.LOPES, J. V. et al. Canine visceral leishmaniasis in area with recent *Leishmania* transmission: prevalence, diagnosis, and molecular identification of the infecting species. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 53, 2020.

136.MIHOUBI, I. et al. Utility of real-time PCR for the diagnosis of infantile visceral leishmaniasis in Algeria. *Medecine et santetropicales*, v. 22, n. 1, p. 61-64, 2012.

137.GEDDA, M. R. et al. Nanodiagnosics in leishmaniasis: A new frontiers for early elimination. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol. Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, p. e1675, 2020.

138.CROFT, S. L.; OLLIARO, P. Leishmaniasis chemotherapy - challenges and opportunities. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 17, n. 10, p. 1478-1483, 2011.

139.SUNDAR, S.; SINGH, A. Chemotherapeutics of visceral leishmaniasis: present and future developments. *Parasitology*, v. 145, n. 4, p. 481, 2018.

140.SUNDAR, S.; CHAKRAVARTY, J. An update on pharmacotherapy for leishmaniasis. *Expert opinion on pharmacotherapy*, v. 16, n. 2, p. 237-252, 2015.

141.GOYAL, V. et al. Long-term incidence of relapse and post-kala-azar dermal leishmaniasis after three different visceral leishmaniasis treatment regimens in Bihar, India. *PLoS neglected tropical diseases*, v. 14, n. 7, p. e0008429, 2020.

142.HENDRICKX, S. et al. Evidence of a drug-specific impact of experimentally selected paromomycin and miltefosine resistance on parasite fitness in *Leishmania infantum*. *J Antimicrob Chemother*, v. 71, n. 7, p. 1914-1921, 2016.

143.PONTE-SUCRE, A. et al. Drug resistance and treatment failure in leishmaniasis: A 21st century challenge. *PLoS neglected tropical diseases*, v. 11, n. 12, p. e0006052, 2017.

144.BRASIL. Ministério da Saúde. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria Interministerial nº 1426/2008. Diário Oficial, 11 de julho de 2008, Brasília, 2008.

145.BRASIL. Tribunal Regional Federal da 3ª Região. Acórdão 8268/2013. DIÁRIO ELETRÔNICO DA JUSTIÇA FEDERAL DA 3ª REGIÃO. Edição nº 11/2013, 16 de janeiro de 2013, São Paulo, 2013.

146.DIAS, A. F. D. L. R. et al. Comparative study of the use of miltefosine, miltefosine plus allopurinol, and allopurinol in dogs with visceral leishmaniasis. *Experimental Parasitology*, v. 217, p. 107947, 2020.

147.BUCHINI, J.L.C.et al. Leishmaniose visceral em um Pastor Belga: relato de caso. *Visceral leishmaniasis in a Belgian Pastor: case report*. R. bras. Ci. Vet., v. 28, n. 1, p. 37-41, jan./mar. 2021.

148.LISBOA, J.CL.; URZULIN, H.A.; ARAUJO, K.S.; SANTANA, M.A.; BENTO, S.G.R.; NOGUEIRA, F.S. Acompanhamento clínico e laboratorial de cães parasitologicamente positivos para Leishmaniose visceral submetidos a terapia com miltefosina associada ao alopurinol. *Revista de Educação Continuada em Medicina e Zootecnia do CRMV-SP*, v.16, n.3, p.79-80, 2018.

149.DE CARVALHO, I. P. S. F.; PEIXOTO, H. M.; ROMERO, G. A. S.; DE OLIVEIRA, M. R. F. Treatment with liposomal amphotericin B for all confirmed cases of human visceral leishmaniasis in brazil: a budget impact analysis. *Value in Health Regional Issues*, v. 23, p. 77-84, 2020.

150.GONÇALVES, A. A. M. et al. An overview of immunotherapeutic approaches against canine visceral leishmaniasis: what has been tested on dogs and a new perspective on improving treatment efficacy. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 9, 2019.

151.ROATT, B. M. et al. Recent advances and new strategies on leishmaniasis treatment. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 104, n. 21, p. 8965-8977, 2020.

152.TASLIMI, Y.; ZAHEDIFARD, F.; RAFATI, S. Leishmaniasis and various immunotherapeutic approaches. *Parasitology*, v. 145, n. 4, p. 497-507, 2018.

153.MS - Ministério da Saúde. Controle, Diagnóstico e Tratamento de Leishmaniose Visceral (Calazar) – Normas Técnicas. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 1996.

154.BRASIL. Ministério da Saúde. Guia de vigilância epidemiológica, 7a edição. Brasília: Ministério da Saúde, 2010.

155.LEMOS, M. H. S. et al. Epidemiologia das leishmanioses no estado do Piauí. *Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research*, v. 25, n. 2, p. 53-57, 2018. Disponível em: https://www.mastereditora.com.br/periodico/20190103_214829.pdf. Acesso em: 18 dez. 2020.

156.COSTA, D. N. C. C. et al. Controle da leishmaniose visceral canina por eutanásia: estimativa de efeito baseado em inquérito e modelagem matemática. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 36, p. e00221418, 2020.

157.ZUBEN, A. P. B. V.; DONALÍSIO, M. R. Dificuldades na execução das diretrizes do Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral em grandes municípios brasileiros. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 32, p. e00087415, 2016.

158.MELO, S. N. et al. Prevalence of visceral leishmaniasis in A population of freeroaming dogs as determined by multiple sampling efforts: A longitudinal study analyzing the effectiveness of euthanasia. *Preventive veterinary medicine*, v. 161, p. 19-24, 2018.

159.CASTELLI, G. et al. Genetic tools discriminate strains of *Leishmania infantum* isolated from humans and dogs in Sicily, Italy. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, v. 14, n. 7, p. e0008465, 2020.

160.PAREYN, M. et al. An integrative approach to identify sand fly vectors of leishmaniasis in Ethiopia by morphological and molecular techniques. *Parasites & vectors*, v. 13, n. 1, p. 1-13, 2020.

161.VAN DEN BROECK, F. et al. Ecological divergence and hybridization of Neotropical *Leishmania* parasites. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 117, n. 40, p. 25159-25168, 2020.

162.ROSÁRIO, I. N. et al. Evaluating the Adaptation Process of Sandfly Fauna to Anthropized Environments in a Leishmaniasis Transmission Area in the Brazilian Amazon. *Journal of medical entomology*, v. 54, n. 2, p. 450-459, 2017.

163.SALDANHA-ELIAS, A. M. et al. Prevalence of endoparasites in urban stray dogs from Brazil Diagnosed with *Leishmania*, with potential for human zoonoses. *Acta parasitologica*, v. 64, n. 2, p. 352-359, 2019.

164.MARCHI, M. N. A.; CALDART, E. T.; MARTINS, F. D. C.; FREIRE, R. L. Spatial analysis of leishmaniasis in Brazil: a systematized review. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 61, p. 1-7, 2019.

165.ALVES, E. B. et al. Effectiveness of insecticide-impregnated collars for the control of canine visceral leishmaniasis. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 182, p. 105104, 2020.

166.CROFT, A. M.; BAKER, D.; VON BERTELE, M. J. An evidence-based vector control strategy for military deployments: the British Army experience. *Medecinotropica*, v. 61, n. 1, p. 91-98, 2001.

167.DE MENDONÇA, L. Z. et al. Multicomponent LBSap vaccine displays immunological and parasitological profiles similar to those of Leish-Tec® and Leishmune® vaccines against visceral leishmaniasis. *Parasites & vectors*, v. 9, n. 1, p. 1-12, 2016.

168.GIUNCHETTI, R. C. et al. Canine visceral leishmaniasis biomarkers and their employment in vaccines. *Veterinary parasitology*, v. 271, p. 87-97, 2019.

169.MAISONNEUVE, C.; BERTHOLET, S.; PHILPOTT, D. J.; DE GREGORIO, E. Unleashing the potential of NOD-and Toll-like agonists as vaccine adjuvants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 111, n. 34, p. 12294-12299, 2014.

170.REED, S. G.; ORR, M. T.; FOX, C. B. Key roles of adjuvants in modern vaccines. *Nature medicine*, v. 19, n. 12, p. 1597-1608, 2013.

171.PANDEY, S. C.; KUMAR, A.; SAMANT, M. Genetically modified live attenuated vaccine: A potential strategy to combat visceral leishmaniasis. *Parasite Immunology*, v. 42, n. 9, p. e12732, 2020.

172.KHAN, M. A. A. et al. An immunoinformatic approach driven by experimental proteomics: in silico design of a subunit candidate vaccine targeting secretory proteins of *Leishmania donovani* amastigotes. *Parasites & Vectors*, v. 13, p. 1-21, 2020.

173.RATNAPRIYA, S.; SAHASRABUDDHE, A. A.; DUBE, A. Visceral leishmaniasis: An overview of vaccine adjuvants and their applications. *Vaccine*, v. 37, n. 27, p. 3505-3519, 2019.

174.IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Panorama de Pedro II, 2019. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pi/pedro-ii/panorama> Acessado em: 05 de fev. 2019.

175.SCHUBACH, E. Y. P. Validação da técnica de imunocromatografia rápida de duplo percurso para o diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina em amostras de sangue total e soro. Brasília, Dissertação de Mestrado em Medicina Tropical – Faculdade de Medicina, 2011.

- 176.CFMV - Conselho Federal De Medicina Veterinária. (2012). Resolução N 1.000, de 11 de maio de 2012. Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais e dá outras providências. Resolução 1.000, p.1-9, 2012. Disponível em: <<http://portal.cfmv.gov.br/lei/index/id/326>> Acesso em: 30 mar. 2019
- 177.CEVS/RS. Leishmaniose visceral no Rio Grande do Sul. Boletim epidemiológico. Porto Alegre RS, v.13, n.1, 2011. Disponível em: http://www.saude.rs.gov.br/upload/1337355106_v.13,%20n.1,%20mar.,%202011.pdf.
- 178.FARIA, A. R.; ANDRADE, H. M. Diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina: grandes avanços tecnológicos e baixa aplicação prática. Revista Pan-Amazônica Saúde, v. 3, p. 47-57, 2012.
- 179.FUJISAWA, K. et al. Emergent canine visceral leishmaniasis in Argentina: Comparative diagnostics and relevance to proliferation of human disease. PLoS neglected tropical diseases, v. 15, n. 7, p. e0009552, 2021.
- 180.ALVES, E. B et al. Dificuldades operativas em el uso de collares impregnados con insecticida para el control de la leishmaniasis visceral, municipio de Montes Claros, MG, Brasil, 2012. Epidemiol. Serv. Saúde, 27 (4), 2018.
- 181.BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Imunização e Doenças Transmissíveis. Coordenação-Geral de Vigilância de Zoonoses e Doenças de Transmissão Vetorial. Portaria nº 2.684/16. Brasília: Ministério de Saúde, 2016. https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2016/prt2684_09_12_2016.html
- 182.BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Imunização e Doenças Transmissíveis. Coordenação-Geral de Vigilância de Zoonoses e Doenças de Transmissão Vetorial. Nota técnica Nº 5/2021CGZV/DEIDT/SVS/MS. Brasília: Ministério de Saúde, 2021.
- 183.BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Manual de vigilância, prevenção e controle de zoonoses. Normas técnicas e operacionais. Brasília: Ministério de Saúde, 2016.
- 184.Coura-Vital, W., Reis, A.B., Reis, L.E., Braga, S.L., Roatt, B.M., Aguiar Soares, R.D., Marques, M.J, Veloso, V.M., Carneiro, M. (2013b). Canine visceral leishmaniasis: incidence and risk factors for infection in a cohort study in Brazil. Vet Parasitol. 197(3-4): 411-7
185. Romero, GAS.; Boelaert, M. Control of visceral Leishmaniasis in Latin America – A Systematic Review. PLoS Negl Trop Dis. 2010;4(1):e584.

186. Organização Pan-Americana da Saúde. Informes Leishmanioses Nº 9 - Dezembro de 2020. Disponível em: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/53091>. Acesso em: 11/11/2021.
187. Araújo Filho, N.A. (1979) Epidemiologia da leishmaniose tegumentar na Ilha Grande, PhD Thesis, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 144.
188. Rangel, E.F. & Lainson, R. (2009) Proven and putative vectors of American cutaneous leishmaniasis in Brazil: aspects of their biology and vectorial competence. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 104, 937-54.
189. Carvalho, M.R., Lima, B.S., Marinho, J., Ferreira, J., Silva, F.J. & Valença, H.F., (2007) Phlebotomine sandflies species from American visceral leishmaniasis in the North Rainforest region of Pernambuco State, Brazil. *Cad Saúde Públ*, 23, 1227–1232.
190. Silva RA, Santos FKM, Sousa LCaranha, Rangel EF, Bevilaqua CM (2014). Ecology of *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia migonei* in an endemic area for visceral leishmaniasis. *Braz J Vet Parasitol*. 23, 320-327.
191. Rodrigues, A.C., Melo, L.M. Magalhães, R.D., Moraes, N.B., Souza Júnior, A.D. & Bevilaqua, C.M. (2016) Molecular identification of *Lutzomyia migonei* (Diptera: Psychodidae) as a potential vector for *Leishmania infantum* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae). *Vet Parasitol*, 15, 28-32.
192. DEANE, L. de M. Leishmaniose visceral no Brasil. Estudos sobre reservatórios, e transmissores realizados no Estado do Ceará. Rio de Janeiro, Serviço Nacional de Educação Sanitária, 1956.
193. LAINSON R., SHAW J.J. The role of animals in the epidemiology of South American Leishmaniasis. In: *Biology of the Kinetoplastida*. W.H.R. Lumsden; D.A. Evans, Academic Press, London, New York, vol. 2, 1979.
194. LAINSON R., SHAW J.J. New World Leishmaniasis – The Neotropical *Leishmania* species. In. *Microbiology and Microbial Infections*. Edit. Topley & Wilson's, 9th Edition, p. 243-266, 1998.
195. GALATI, Eunice A. B., Estudo de flebotomíneos (Diptera: Psycodidae) em foco de leishmaniose visceral no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Rev. Saúde Pública*, 31 (4): 378-90, 1997.
196. Santos SO, Arias JR, Ribeiro AA, Hoffmann MP, Freitas RA, Malacco MAF. Incrimination of *Lutzomyia cruzi* as a vector of American Visceral Leishmaniasis. *Med Vet Entomol* 1998; 12: 315–317.
197. LIMA Jr. F.E. Cenários da Leishmaniose visceral. SVS/MS. Departamento de Doenças Transmissíveis. São Paulo/SP, p. 37, 2018.

198. Palatnik-de-Sousa CB, Day MJ. One health: the global challenge of epidemic and endemic leishmaniasis. *Parasit Vectors* 2011; 4:1-10.
199. Carvalho RM, Valença HF, Silva FJ, Pita-Pereira D, Pereira TA, Britto C, Brazil RP, Brandão Filho SP (2010) Natural *Leishmania infantum* in *Migonemyia migonei* (França, 1920) (Diptera:Psychodidae: Phlebotominae) the putative vector of visceral leishmaniasis in Pernambuco. State, Brazil. *Acta Trop* 116:108–110.
200. Rodrigues ACM, Melo LM, Magalhães RD, de Moraes NB, Júnior ADS, Bevilagua CML (2016) Molecular identification of *Lutzomyia migonei* (Diptera: Psychodidae) as a potential vector for *Leishmania infantum* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae). *Veterinary Parasitology* 220:28–32.
201. Guimarães VCFV, Pruzinova K, Sadlova J, Volfova V, Myskova J, Brandão Filho S, Volf P (2016) *Lutzomyia migonei* is a permissive vector competent for *Leishmania infantum*. *Parasit Vectors* 9: 159.
202. Salomón OD, Quintana MG, Bezzi G, Morán ML, Betbeder E, Valdéz DV. *Lutzomyia migonei* as putative vector of visceral leishmaniasis in La Banda, Argentina. *Acta Trop.* 2010 Jan;113(1):84-7.doi: 10.1016/j.actatropica.2009.08.024. Epub 2009 Aug 28. PMID: 19716797.

APÊNDICES

APÊNDICE A: ARTIGO DE REVISÃO INTEGRATIVA PUBLICADO NA REVISTA BRAZILIAN JOURNAL OF DEVELOPMENT.

Brazilian Journal of Development

71398

Estudo comparativo entre metodologias para o diagnóstico da leishmaniose visceral humana: uma revisão integrativa

Comparative study methodologies for the diagnosis of human visceral leishmaniasis: an integrative review

DOI:10.34117/bjdv6n9-547

Recebimento dos originais: 08/08/2020
Aceitação para publicação: 23/09/2020

Roberto Coelho de Farias

Farmacêutico, Mestrando em Medicina Tropical pela Fiocruz - PI
Laboratório central de saúde Pública Dr. Costa Alvarenga: Lacen - PI
Rua Magalhães Filho, 519, Centro/Norte – Teresina – PI, CEP: 64000-128
E-mail: tenrcf@hotmail.com

Jéssica Pereira dos Santos

Mestre em Medicina Tropical pelo Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical - Fiocruz
Rua Magalhães Filho, 519, Centro/Norte – Teresina – PI, CEP: 64000-128
E-mail: jessik_ssantos@hotmail.com

Elaine Ferreira do Nascimento

Doutorado em Ciências
Fio Cruz Piauí - PPGPP
Rua Magalhães Filho, 519, Centro/Norte – Teresina - PI – CEP: 64000-128
E-mail: negraelaine@gmail.com

Jossuely Rocha Mendes

Especialista em saúde pública
Lacen - PI
R. Dezenove de Novembro, 1945 - Primavera, Teresina - PI, CEP: 64002-585
E-mail: jossuelym@hotmail.com

Ranieri Flávio Viana de Sousa

Mestre em Medicina Tropical
Escritório Técnico Regional Fio Cruz Piauí, Fundação Oswaldo Cruz
Rua Desembargador Pires de Castro, 3237, Aeroporto, CEP: 64002-490
E-mail: ranieriflavio@hotmail.com

Darwin Renne Florêncio Cardoso

Biomédico e Mestre em Medicina Tropical pela Fundação Oswaldo Cruz
Rua Magalhães Filho, 519, Centro/Norte – Teresina – PI, CEP: 64000-128
E-mail: darwin.cardoso@hotmail.com

Brazilian Journal of Development

Francisco Robert Lemos da Fonseca
Especialista em Saúde da família - UFPI
Médico urgencista e emergencista SAMU altos e Parnaíba
Rua Dom Pedro II, 417, Centro, Altos - PI
E-mail: frfl19@yahoo.com.br

Eneas Costa Junior
Biomédico
Mestrando em Medicina Tropical - Fiocruz Piauí
Rua Magalhães Filho, 519, Centro/Norte – Teresina – PI, CEP: 64000-128
E-mail: eneas.jr@outlook.com.br

Kelly Maria Rego da Silva
Especialista em Microbiologia
Lacen - PI
R. Dezenove de Novembro, 1945 - Primavera, Teresina - PI, CEP: 64002-585

Jéssica Laís Couto Machado
Mestranda em Medicina Tropical
IOC/ FIOCRUZ-PI
Rua Magalhães Filho, 519, Centro/Norte – Teresina - PI, CEP: 64000-128
E-mail: jessik.couto@hotmail.com

Guilherme Loureiro Werneck
Doutorado em Saúde Pública e Epidemiologia
Fiocruz - PI
Rua Magalhães Filho, 519, Centro/Norte – Teresina - PI, CEP 64000-128
E-mail: gwerneck@iesc.ufjf.br

Regis Bernardo Brandim Gomes
Doutorado
Fiocruz Ceará
Rua São José, S/N, Precabura, Eusébio – CE, CEP: 61760-000
E-mail: regis.gomes@fiocruz.br

RESUMO

Objetivo: Discutir e comparar os testes utilizados no diagnóstico da Leishmaniose Visceral (LV). Métodos: O presente estudo trata-se de uma revisão integrativa de literatura. Para a seleção dos artigos utilizou-se a base de dados Pubmed e a amostra desta revisão constituiu-se de sete artigos. Resultados: Existem várias metodologias, destacando-se os testes rápidos, ELISA (Enzimaímmunoensaio), DAT (teste de aglutinação direta), RIFI (ensaio de imunofluorescência indireta), aspiração esplênica, teste de aglutinação em látex (KAtex), PCR (Reação em cadeia da polimerase) convencional e PCR. Em maioria apresentam uma diferença se sensibilidade e especificidade a depender do fabricante, todavia os métodos de biologia molecular mostraram-se mais efetivos em relação aos demais e os testes rápidos apresentaram um grande diferencial quanto a praticidade. Considerações finais: os testes convencionalmente usados para o diagnóstico da LV apresentaram variações significativas em relação à sua sensibilidade e existe a necessidade de mais de uma metodologia diferente para a confirmação do resultado.

Palavras-chave: Leishmaniose Visceral, Testes laboratoriais, Diagnóstico.

ABSTRACT

Objective: To discuss and compare the tests used in the diagnosis of Visceral Leishmaniasis (VL). **Methods:** The present study is an integrative literature review. For the selection of articles, the Pubmed database was used and the sample of this review consisted of seven articles. **Results:** There are several methodologies, including rapid tests, ELISA (enzyme immunoassay), DAT (direct agglutination test), RIFI (indirect immunofluorescence assay), splenic aspiration, latex agglutination test (KAtex), PCR (Reaction in polymerase chain) and PCR. Most of them present a difference in sensitivity and specificity depending on the manufacturer, however the molecular biology methods have shown to be more effective in relation to the others and the rapid tests have presented a great difference in terms of practicality. **Final considerations:** the tests conventionally used for the diagnosis of VL showed significant variations in relation to its sensitivity and there is a need for more than a different methodology to confirm the result.

Keywords: Visceral leishmaniasis, Laboratory tests, Diagnosis.

1 INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral (LV) é uma doença causada por um protozoário do gênero *Leishmania*, que parasita mamíferos e, entre eles, o homem. Dentre os sintomas causados pela doença destacam-se: febre persistente, perda de peso, hepato e esplenomegalia acompanhadas ou não de pancitopenia (TORRES-GUERRERO E, et al., 2017).

A LV é uma doença de caráter crônico, negligenciada, e que possui grande impacto na saúde pública, apresentando alta letalidade, que nos casos não tratados tem uma média de 10% do número de óbitos ligados a patologia (SOUSA JMDS, et al., 2018). No Brasil, sem levar em consideração os casos de subnotificação, foram informados 22.525 casos de leishmaniose visceral humana entre os anos de 2013 a 2018, abrangendo todas as faixas etárias e com incidência média de 1,85/100 mil habitantes e taxa de 7,04% de óbitos. (MENDES JR, et al., 2020).

O diagnóstico da LV é extremamente importante para que o tratamento do paciente possa ser iniciado prontamente, evitando assim os casos de óbitos por LV. Tradicionalmente, é feito com a demonstração direta ou através do cultivo do parasita originário de células infectadas obtidas da punção da medula ou de biópsia da pele do paciente (CARVALHO NETA AVD, et al., 2006). Outras formas de diagnóstico, bem menos invasiva, são os testes imunológicos que se baseiam na resposta das células do sistema imune do paciente e na produção de anticorpos anti-*Leishmania*. Como exemplos, o teste cutâneo de Montenegro e os testes sorológicos que são utilizados na rotina dos centros de referências do país (FARIA AR e ANDRADE HMD, 2012).

Dentre os testes sorológicos destacam-se o ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay), o RIFI (Reação de Imunofluorescência Indireta), o DAT (Teste de Aglutinação Direta) e

Brazilian Journal of Development

testes imunocromatográficos rápidos (TIC) que utilizam como antígeno a proteína recombinante K39 (rK39) (LAURENTI MD, 2009). Sendo esse considerado uma inovação na área, sendo cada vez mais difundidos tanto nos ambientes de pesquisas no campo da LV quanto na prática clínica, são de fácil utilização, necessitam de pouca quantidade de sangue e proporcionam fácil leitura, todavia por terem como base a pesquisa de anticorpos, podem continuar sendo detectados mesmo após a cura da doença (RANGEL O, et al., 2013; DOURADO ZF, et al., 2007).

A técnica de ELISA é uma técnica rápida, de fácil execução e leitura, tendo uma sensibilidade maior que a do RIFI, sendo capaz de detectar baixas quantidades de anticorpos. Entretanto, é pouco precisa nos casos assintomáticos e subclínicos (GRIMALDI Jr, et al., 2012). Já a RIFI possui uma especificidade de aproximadamente 80% e uma sensibilidade de 90 a 100%, porém a reação dispendiosa e não adaptada para pesquisa epidemiológica em grande escala (GONTIJO CMF e MELO MN, 2004).

Todos os testes possuem sua contribuição no diagnóstico e são de grande importância para a evolução dos casos, um diagnóstico rápido e correto pode evitar não somente o agravamento e a debilitação do paciente como a possibilidade de ele ir a óbito. Com tantos testes no mercado, das mais variadas metodologias e especificidades quanto ao diagnóstico das leishmanioses, o objetivo desta revisão integrativa é selecionar e avaliar estudos que compararam a sensibilidade e especificidade dos testes imunocromatográficos (TIC) rápidos, com outros métodos utilizados no diagnóstico da LV humana (LVH).

2 METODOLOGIA

Trata-se de uma revisão na literatura em que foram selecionadas publicações com temas relacionados à comparação de testes utilizados no diagnóstico da LV, sem restrição geográfica. A busca ocorreu no período de 22 a 26 de julho de 2019 e foi realizada na base de dados Pubmed/Medline (Medical Literature Analysis and Retrieval System Online), utilizando-se como Descritores em Ciências da Saúde (DeCS): "human visceral leishmaniasis", "serologic", "Brazil", com o operador booleano "and", que permitiu acessar os artigos que possuem intersecção entre os diferentes descritores. A busca das publicações foi dividida em dois momentos: primeiramente utilizou-se dos descritores "human visceral leishmaniasis" e "serologic", encontrando um total de 242 artigos, em seguida utilizou-se os filtros de "Texto completo grátis" e estudos publicados nos últimos 5 anos, finalizando assim com 22 publicações no qual foram aplicados os critérios de inclusão e exclusão. No segundo momento foi realizada a busca com os descritores "human visceral

Brazilian Journal of Development

leishmaniasis”, “serologic” e “Brazil”, que inicialmente apresentou 49 publicações e no qual foram aplicados os mesmos filtros da primeira busca, finalizando assim com 08 publicações.

Após as duas etapas foram aplicados os seguintes critérios para o total de 30 publicações encontradas: Considerou-se como critérios de inclusão apenas pesquisas realizadas em humanos, disponíveis na íntegra, nos idiomas português, inglês ou espanhol, publicadas nos últimos 5 anos (2013 a 2018) e que citavam a comparação de testes imunocromatográficos rápidos utilizados no diagnóstico da LV, restando, portanto, 10 artigos. Foram excluídas as revisões, teses, dissertações, monografias e estudos que abordavam a LVH como dado secundário.

Após a aplicação desses critérios, resultaram-se, ao final da busca, sete estudos científicos que foram lidos, categorizados e avaliados para a interpretação dos resultados.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após análise dos estudos, chegou-se a um total de sete artigos que foram estruturados para melhor compreensão conforme demonstrado na Tabela 1 abaixo.

Tabela 1- Artigos sobre a comparação de testes imunocromatográficos rápidos utilizados no diagnóstico da Leishmaniose Visceral selecionados para compor a revisão integrativa.

Autor/ Ano	País	Objetivo	Principais Resultados
Freire ML, et al., 2018	Brasil	Avaliar o desempenho do teste <i>Leishmania</i> IgG /IgM Combo OnSite para o diagnóstico de LV no Brasil.	113 amostras de pacientes positivas para LV e 73 controles negativos foram testadas e uma sensibilidade de 91,2% e especificidade de 94,5% foram observadas. Os resultados indicam a necessidade de análises e comparações com o desempenho de outros testes comerciais disponíveis para definir o impacto desse novo teste na qualidade do diagnóstico de LV no Brasil.
Bangert M, et al., 2018	Espanha	Avaliar a sensibilidade e a especificidade da rK39- TIC, DAT e RIFI usando amostras de soro coletadas na Espanha entre 2009 e 2015.	Sensibilidades de 78,0%, 86,5% e 79,4% e especificidade de 100,0%, 85,9% e 99,2% foram observadas para rK39-TIC, DAT e RIFI respectivamente. Embora rK39-ICT e DAT exibam sensibilidade e especificidade aceitáveis, é necessária uma combinação com outros testes para o diagnóstico altamente sensível de casos de LV na Espanha.
Varani S, et al., 2017	Itália	Utilizar uma estratégia diagnóstica integrada, combinando testes sorológicos e moleculares com critérios clínicos padronizados.	Em 10 dos 21 casos confirmados de LV, a rK39 TIC mostrou-se negativa, incluindo três pacientes HIV positivos, com uma sensibilidade geral de 52,4%. Ao restringir os resultados a pacientes incompetentes, a sensibilidade e a especificidade das rK39 TIC foram de 60% e 96,5%, respectivamente. O RIFI apresentou resultado positivo em 18 dos 20 pacientes diagnosticados com LV com uma sensibilidade de 90,0% e a especificidade 89,54%. A RT-PCR exibiu sensibilidade equivalente. A rK39 TIC não é suficientemente sensível para ser usado como um teste de triagem na Itália.
Kiros YK e Regassa BF, 2017	Etiópia	Determinar a sensibilidade e especificidade do rK39- TIC no diagnóstico de LV.	A sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo de rK39-ICT, tomando aspiração esplênica como teste padrão-ouro, é de 84,1%, 27,8%, 74,0% e 41,7%, respectivamente. A sensibilidade e a especificidade do rK39-TIC é baixa. Dessa forma, a definição de caso para LV na Etiópia precisa ser revisitada.

Júnior WLB, <i>et al.</i> , 2015	Brasil	Avaliar a utilidade de um teste imunocromatográfico baseado em rK39 TIC (IT LEISH) e um teste de aglutinação em látex (KAtex) para detecção de antígeno urinário de LV em 15 pacientes com HIV/AIDS do nordeste do Brasil.	LV foi confirmada em sete dos 15 pacientes com HIV/AIDS. Todos os pacientes foram positivos para o Teste de Aglutinação Direta (DAT). Destes, quatro foram positivos pelo rK39 TIC e cinco pelo KAtex. No entanto, são necessários estudos em larga escala para validar o KAtex na rede nacional de laboratórios públicos de saúde no Brasil.
Gao CH, <i>et al.</i> , 2015	China	Desenvolver um teste imunocromatográfico (TIC) baseado na detecção de um antígeno circulante de <i>Leishmania</i> usando anticorpos monoclonais (mAbs). Para comparação, foi utilizado o teste Kalazar Detect (InBios).	A sensibilidade, especificidade e eficiência diagnóstica da TIC analisada no estudo foram de 95,8%, 98,7% e 97,3% respectivamente. Quando comparado com um anticorpo comercialmente disponível que detecta TIC, a TIC baseada em antígeno teve um melhor desempenho.
Kumar D, <i>et al.</i> , 2013	Índia e Nepal	Examinar as sensibilidades e especificidades de seis TIC comercialmente disponíveis em sangue total e soro de pacientes com LV confirmados parasitologicamente.	As sensibilidades de todos os TR na Índia ficaram entre 94,7 e 100,0% e especificidades entre 92,4 e 100,0%, exceto a da Onsite <i>Leishmania</i> Ab RevB kit (33,6 a 42,0%), com pouca diferença entre o sangue total e o soro.

Fonte: Autores, 2020.

O período das publicações variou de 2013 a 2018, com estudos realizados no Brasil, Espanha, Itália, Etiópia, China, Índia e Nepal. Os estudos transversais e de coorte foram os desenhos metodológicos utilizados nos artigos selecionados, com população de análise sendo indivíduos com casos confirmados e/ou suspeitos para LV.

Em relação aos testes rápidos para diagnóstico da LV, foi verificado que várias marcas comerciais que utilizam o antígeno recombinante K39 (rK39) estão disponíveis. Dentre elas, foi possível destacar: kit Onsite *Leishmania* (CTK Biotech), kit Onsite *Leishmania* RevA e Ab RevB (CTK Biotech), kit Kalazar Detect (Inbios Internacional), kit Rapydtest (Diagnostic International Distribution), kits Signal-KA e Crystal-KA (Span Diagnostics) e kit IT LEISH (Bio-Rad) (BANGERT M, *et al.*, 2018; KIROS YK e REGASSA BF, 2017; KUMAR D, *et al.*, 2013; GAO CH, *et al.*, 2015; FREIRE ML, *et al.*, 2018; JÚNIOR WLB, *et al.*, 2015; VARANI S, *et al.*, 2017).

Nos estudos analisado, estes testes rápidos foram comparados a diversos outros testes, tais como ELISA (Enzaimunoensaio), DAT (teste de aglutinação direta), RIFI (ensaio de imunofluorescência indireta), aspiração esplênica, teste de aglutinação em látex (KAtex), PCR (Reação em cadeia da polimerase) convencional e PCR em tempo real, conforme especificado na Tabela 2.

Tabela 2- Comparação de testes imunocromatográficos rápidos utilizados no diagnóstico da Leishmaniose Visceral, segundo os autores selecionados.

Autores					Comparação dos testes utilizados no diagnóstico para Leishmaniose Visceral		
Freire ML, et al., 2018	Bangerl M, et al., 2018	Váranai S, et al., 2017	Kiros YK e Regassa BF, 2017	Junior WLB, et al., 2015	Gao CH, et al., 2015	Kumar D, et al., 2013	
X							Onsite <i>Leishmania</i> (TESTE RÁPIDO)
					X		ELISA
X						X	IT LEISH (TESTE RÁPIDO)
	X		X		X	X	Kalazar Detect (TESTE RÁPIDO)
X							Teste de aglutinação direta
		X					Ensaio de imunofluorescência indireta
			X				Aspiração esplênica
				X			Teste de aglutinação em lítex
		X					PCR em tempo real
		X					PCR convencional
						X	Onsite <i>Leishmania</i> RevA (TESTE RÁPIDO)
						X	Onsite <i>Leishmania</i> RevB (TESTE RÁPIDO)
						X	Signal-KA (TESTE RÁPIDO)
						X	Crystal-KA (TESTE RÁPIDO)
					X		Teste imunocromatográfico desenvolvido pelos próprios autores (TESTE RÁPIDO)

Fonte: Autores, 2020.

O diagnóstico laboratorial de LV inclui a detecção de *Leishmania* por microscopia direta ou cultura em amostras clínicas, detecção de antígeno ou anticorpos específicos e detecção do DNA do parasito. O diagnóstico definitivo de LV requer a demonstração do parasita a partir de um aspirado medular (busca do antígeno), como o baço, a medula óssea ou o linfonodo, porém, como este é um procedimento bastante invasivo com potenciais complicações, não é amplamente utilizado, a não ser em hospitais especializados referências para doenças tropicais negligenciadas. Com isso, o diagnóstico da LV baseia-se principalmente em testes sorológicos rk39-ICT (ELMAHALLAWY EK, et al., 2014). Apesar de algumas limitações desses testes, tais como reatividade cruzada com outras infecções e comprometimento do resultado sorológico em co-infecção de LV com HIV, vários estudos de validade do rk39-ICT conduzidos em diferentes países mostram boa sensibilidade e especificidade, com variações em diferentes configurações a depender do fabricante. Em estudo realizado por Kiros e Regassa (2017), a especificidade do rK39-ICT foi de 27,8%, resultado este

Brazilian Journal of Development

significativamente menor em comparação com estudos realizados na Índia (SINGH DP, et al., 2010), Sudão (BOELAERT M, et al., 2014) e Brasil (CARVALHO SF, et al., 2003), que mostraram especificidades de 98%, 89% e 100%, respectivamente.

De acordo com Gao CH et al. (2015), as limitações dos métodos sorológicos podem ser superadas pelos testes de detecção de antígenos, visto que o desempenho de um teste imunocromatográfico desenvolvido pelos autores foi melhor do que a maioria dos métodos de detecção de anticorpos desenvolvidos anteriormente para o diagnóstico de LV. Como exemplo, vários estudos avaliando diferentes ensaios imunológicos, incluindo ELISA, RIFI e DAT, mostraram que as sensibilidades e especificidades desses testes variam entre 55–100% (ELISA e RIFI) e 72–100% (DAT), respectivamente, e tais testes não possuem caráter invasivo o que propiciaria a uma melhor adesão por parte da população e da comunidade hospitalar.

Ainda segundo os autores, na ausência de um padrão-ouro prático são necessários testes diagnósticos que possam detectar de forma rápida e precisamente casos de LV em condições de campo e laboratório, o padrão ouro para o diagnóstico das Leishmanioses são os testes de biologia molecular (PCR convencional e PCR em tempo real) porém esses demandam de tecnologias mais avançadas e costumam ter resultados mais demorados. O desempenho necessário e as características operacionais minimamente exigidas de um teste de diagnóstico para detecção de casos de LV são $\geq 95\%$ de sensibilidade, $\geq 98\%$ de especificidade e ≤ 30 min de tempo para o resultado (BOELAERT M, et al., 2014).

Com uma sensibilidade de 95,8%, especificidade de 98,7% e com um tempo de desenvolvimento de 15 minutos, o teste imunocromatográfico desenvolvido pelos autores preencheram os requisitos. No entanto, os mesmos autores concluem que, antes que esse teste possa ser recomendado para uso clínico, ele precisa ser validado em estudos prospectivos de grande escala para confirmar seu desempenho (sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade) e características operacionais (facilidade de uso e estabilidade) em outras regiões endêmicas de LV.

As ferramentas sorológicas fornecem uma boa precisão diagnóstica, desde que sejam usadas em combinação com uma definição de caso clínico padronizada para LV. Esses testes variam de acordo com antígeno alvo (parasita total ou proteína recombinante), facilidade de uso (teste rápido ou necessidade de alguma infraestrutura laboratorial), sensibilidade, especificidade e custo (COTA GF, et al., 2013).

Embora os testes DAT, rK39 ICT e KAtex representem diferentes metodologias de diagnóstico, eles mostraram um bom nível de concordância. Por outro lado, e apesar das limitações do rK39 TIC em termos de sensibilidade para o diagnóstico de LV em pacientes com HIV/AIDS,

Brazilian Journal of Development

ele é um teste rápido e muito simples que pode ser aplicado em condições de campo, sendo uma ferramenta diagnóstica que exige amostras não invasivas (JÚNIOR WLB, et al., 2015).

Varani S et al. (2017), em um estudo realizado com amostras de soro coletadas de pacientes com sinais clínicos e dados laboratoriais sugestivos de LV, demonstraram que a sensibilidade dos testes sorológicos rK39 TIC e RIFI atingiu 85,7% para o diagnóstico da doença. De acordo com os autores, A RIFI mostrou-se melhor que a rK39 TIC e pode ser considerada uma boa opção para a triagem de VL se os testes moleculares não forem padronizados

Segundo Freire ML et al. (2018), as diferenças de sensibilidade e especificidade dos testes podem ser devidas a preparações antigênicas, perfis genéticos parasitários prevalentes em diferentes regiões e diversidade genética da população. Kumar D et al. (2013), considera que essas diferenças em geral também dependem da qualidade da preparação e da leitura do teste, tendo em vista que um formato mais simples, com menos etapas ou menos materiais necessários, provavelmente será conduzido de forma mais confiável.

Outro fator que deve ser levado em consideração, segundo Bangert M et al. (2018), é que o desempenho dos testes sorológicos varia de acordo com o cenário epidemiológico, devido aos diferentes títulos de imunoglobulina anti-*Leishmania*, diferentes padrões etários de infecção, imunológico, nutricional e exposição a maior diversidade parasitária. De maneira geral, os testes de diagnóstico rápido podem melhorar a detecção precoce de LV, mas seu desempenho exige validação local (FREIRE ML, et al., 2018).

Em estudo conduzido por Bangert M et al. (2018), foi evidenciado que a sensibilidade e a especificidade variaram entre os testes utilizados para o diagnóstico de LV em pacientes testados na Espanha, no qual o RIFI, rK39-ICT e o DAT foram válidos. Segundo os autores, a escolha do teste está de acordo com o contexto epidemiológico e a aplicação pretendida. No contexto da LV na Europa, foram consideradas três aplicações principais para esses testes: estudos de soroprevalência, diagnóstico clínico e ferramentas de resposta a surtos. Para os estudos de prevalência, o DAT foi o que apresentou melhor desempenho, com a capacidade de processar amostras em lote, com custos aceitáveis e valores de especificidade e sensibilidade em 86% e 85%, respectivamente. Em relação ao diagnóstico clínico, a escolha do teste vai depender do estado imunológico do paciente, tendo em vista que no presente estudo foi evidenciado que a co-infecção com o HIV reduziu a sensibilidade da rK39-ICT, tornando-a menos aplicável em indivíduos com HIV na Espanha. Para aplicação em caso de surtos, o rK39-RDT é o que apresenta melhor benefício em relação a portabilidade, simplicidade e velocidade do resultado, permitindo a rápida identificação e controle da infecção.

Brazilian Journal of Development

De acordo com Júnior WBL et al. (2015), a PCR em tempo real e DAT detectaram a maioria das co-infecções nos pacientes analisados em seu estudo, sendo ferramentas eficazes para o rastreamento de LV em pacientes infectados pelo HIV. Em contrapartida, Kumar D et al. (2013) afirma que embora a PCR pareça a mais razoavelmente sensível e específica para a detecção de infecções por *Leishmania*, essa tecnologia é de difícil aplicação, necessita de insumos dispendiosos e não é apropriada para condições de campo, embora, em áreas de alta endemicidade, ela pode se mostrar muito útil na determinação clínica, pois detecta muitas infecções assintomáticas.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta revisão demonstrou que os testes convencionalmente usados para o diagnóstico da LVH apresentaram variações significativas em relação à sua sensibilidade e especificidade quando comparado os testes de metodologias diferentes e entre os de mesma metodologia, a depender do fabricante. Esses testes também demonstraram a possibilidade de apresentar resultados falsos positivos ou com sensibilidade reduzida em pacientes com outras comorbidades. Concluindo assim que os testes imunocromatográficos cumprem o papel de triagem, mas necessitam de um ou mais de um outro teste laboratorial de metodologia diferente para a confirmação do resultado, a fim de evitar resultados errôneos.

REFERÊNCIAS

ASSIS TSMD, et al. Validação do teste imunocromatográfico rápido IT-LEISH® para o diagnóstico da leishmaniose visceral humana. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 2008; 17(2):107-116.

BOELAERT M, et al. Rapid tests for the diagnosis of visceral leishmaniasis in patients with suspected disease. *Cochrane Database Syst Rev*, 2014.

BRANDONISIO O, et al. Evaluation of a rapid immunochromatographic test for serodiagnosis of visceral leishmaniasis. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 2002;21(6):461-464.

BANGERT M, et al. Validation of rK39 immunochromatographic test and direct agglutination test for the diagnosis of Mediterranean visceral leishmaniasis in Spain. *PLoS neglected tropical diseases*, 2018; 12(3):e0006277.

CARVALHO NETA AVD, et al. Citometria de fluxo no diagnóstico da leishmaniose visceral canina. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 2006; 58(4):480-488.

CARVALHO SF, et al. Performance of recombinant K39 antigen in the diagnosis of Brazilian visceral leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg*, 2003;68(3):321-4.

COTA GF, et al. Comparação de testes parasitológicos, sorológicos e moleculares para leishmaniose visceral em pacientes infectados pelo HIV: um estudo do tipo retardado transversal. *Am J Trop Med Hyg*, 2013; 89 (3): 570-7.

DOURADO ZF, et al. Panorama histórico do diagnóstico laboratorial da leishmaniose visceral até o surgimento dos testes imunocromatográficos (rK39). *Revista de Patologia Tropical/Journal of Tropical Pathology*, 2007;36(3):205-214.

ELMAHALLAWY EK, et al. Diagnosis of leishmaniasis. *J Infect Dev Ctries*, 2014;8(8):961-72.

FARIA AR, ANDRADE HMD. Diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina: grandes avanços tecnológicos e baixa aplicação prática. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, 2012; 3(2):47-57.

FREIRE ML, et al. Evaluation of a new brand of immunochromatographic test for visceral leishmaniasis in Brazil made available from 2018. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 2018.

GAO CH, et al. Development of an immunochromatographic test for diagnosis of visceral leishmaniasis based on detection of a circulating antigen. *PLoS neglected tropical diseases*, 2015; 9(6):e0003902.

GONTIJO CMF, MELO MN. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, 2004; 7:338-349.

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

Brazilian Journal of Development

JUNIOR WLB, et al. Rapid tests and the diagnosis of visceral leishmaniasis and human immunodeficiency virus/acquired immunodeficiency syndrome coinfection. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2015; 93(5):967-969.

KUMAR D, et al. Comparative evaluation of blood and serum samples in rapid immunochromatographic tests for visceral leishmaniasis. *Journal of clinical microbiology*, 2013; 51(12):3955-3959.

KIROS YK, REGASSA BF. The role of rk39 serologic test in the diagnosis of visceral leishmaniasis in a Tertiary Hospital, Northern Ethiopia. *BMC research notes*, 2017;10(1):169.

LAURENTI MD. Correlação entre o diagnóstico parasitológico e sorológico na leishmaniose visceral americana canina. *BEPA. Boletim Epidemiológico Paulista (Online)*, 2009; 6(67):13-23.

MENDES JR, et al. O Piauí como coadjuvante da leishmaniose Visceral brasileira/Piauí as an adjunct of brazilian Visceral Leishmaniasis. *Brazilian Journal of Development*, v. 6, n. 3, p. 11210-11219, 2020.

RANGEL O, et al. Classificação epidemiológica dos municípios segundo o Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral Americana no estado de São Paulo, para 2013. *BEPA. Boletim Epidemiológico Paulista (Online)*, 2013; 10(111):3-14.

SINGH DP, et al. Mohapatra TM. In search of an ideal test for diagnosis, prognosis of kala-azar. *J Health Popul Nutr*, 2010;28 (3):281-5.

SOUSA JMDS, et al. Demographic and clinical characterization of human visceral leishmaniasis in the State of Pernambuco, Brazil between 2006 and 2015. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 2018; 51(5):622-630.

TORRES-GUERRERO E, et al. Leishmaniasis: a review. *F1000Research*, 2017; 6:1-15.

VARANI S, et al. Serological and molecular tools to diagnose visceral leishmaniasis: 2-years' experience of a single center in Northern Italy. *PLoS one*, 2017; 12(8):e0183699.

ANEXOS

ANEXO A. TERMO DE ANUÊNCIA PARA REALIZAÇÃO DO TRABALHO

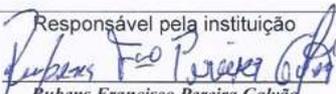


PREFEITURA MUNICIPAL DE PEDRO II - PIAUÍ
SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE - PEDRO II
 CNPJ: 11.694.167/0001 - 16
VIGILÂNCIA EM SAÚDE AMBIENTAL
CENTRO DE CONTROLE DE ENDEMIAS

Autorização institucional

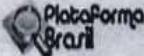
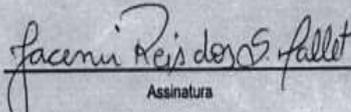
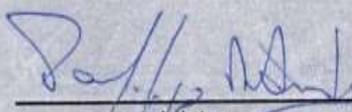
Eu, Rubens Francisco Pereira Galvão responsável pela instituição Centro de Controle de Endemias de Pedro II - PIAUÍ declaro que foi informado dos objetivos da pesquisa "**Perfil epidemiológico da Leishmaniose visceral canina no município de Pedro II, Piauí**", e concordo em autorizar a da mesma nesta instituição. Como necessário, a qualquer momento como COPARTICIPANTE desta pesquisa poderá revogar esta autorização, se comprovada atividades que causem algum prejuízo a esta instituição ou ainda, a qualquer dado que comprometa o sigilo da participação dos integrantes desta instituição. Declaro também, que não recebemos qualquer pagamento por esta autorização bem como os participantes também não receberão qualquer tipo de pagamento.

De acordo com a Resolução Normativa 30 do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (Concea) projetos que não envolvam qualquer tipo de contato ou coleta realizada diretamente nos animais vivos, dispensam a necessidade de aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA.

Responsável pela instituição  Rubens Francisco Pereira Galvão (Supervisor Geral de Endemias de Pedro II-PI)	Pesquisador responsável
--	-------------------------

Vigilância em Saúde Ambiental
Centro de Controle de Endemias
 Rua Antônio Gomes, nº 197 – Bairro Capelinha
 Pedro II – Piauí

ANEXO B. APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

 MINISTÉRIO DA SAÚDE - Conselho Nacional de Saúde - Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP FOLHA DE ROSTO PARA PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS			
1. Projeto de Pesquisa: AVALIAÇÃO DA INCIDÊNCIA DE LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA EM UM MUNICÍPIO DO ESTADO DO PIAUÍ: COMPARAÇÃO DOS EXAMES LABORATORIAIS SOROLÓGICOS RÁPIDOS E IMUNOENZIMÁTICOS NUM SERVIÇO DE REFERÊNCIA			
2. Número de Participantes da Pesquisa: 300			
3. Área Temática: SAÚDE PÚBLICA			
4. Área do Conhecimento: Grande Área 4. Ciências da Saúde			
PESQUISADOR RESPONSÁVEL			
5. Nome: Jacenir Reis dos Santos Mallet			
6. CPF: 710.008.957-34		7. Endereço (Rua, n.º): DAS LARANJEIRAS 347 Laranjeiras apto 206 RIO DE JANEIRO RIO DE JANEIRO 22240005	
8. Nacionalidade: BRASILEIRO		9. Telefone: (21) 2205-4181	10. Outro Telefone: (21) 99696-9039
11. Email: jacenir@ioc.fiocruz.br			
Termo de Compromisso: Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Resolução CNS 466/12 e suas complementares. Comprometo-me a utilizar os materiais e dados coletados exclusivamente para os fins previstos no protocolo e a publicar os resultados sejam eles favoráveis ou não. Aceito as responsabilidades pela condução científica do projeto acima. Tenho ciência que essa folha será anexada ao projeto devidamente assinada por todos os responsáveis e fará parte integrante da documentação do mesmo.			
Data: <u>18</u> / <u>08</u> / <u>2021</u>		 Assinatura	
INSTITUIÇÃO PROPONENTE			
12. Nome: Fundação Oswaldo Cruz		13. CNPJ: 33.781.055/0069-23	14. Unidade/Órgão: FUNDACAO OSWALDO CRUZ/IOC
15. Telefone: (86) 3326-2101		16. Outro Telefone: (21) 2562-1570	
Termo de Compromisso (do responsável pela instituição): Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Resolução CNS 466/12 e suas Complementares e como esta instituição tem condições para o desenvolvimento deste projeto, autorizo sua execução.			
Responsável: <u>Paulo Sergio D'Andrea</u> Vice-Diretor		CPF: <u>062.639.198-92</u>	
Cargo/Função: <u>VDEIC/Instituto Oswaldo Cruz</u> Mat. 0464025		 Assinatura	
Data: <u>24</u> / <u>08</u> / <u>2021</u>			
PATROCINADOR PRINCIPAL			
Não se aplica.			