

**ANÁLISE DA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA E HUMANA NO MUNICÍPIO DE CLÁUDIO,
MACRORREGIONAL DE SAÚDE OESTE DE MINAS GERAIS, BRASIL**

**ANALYSIS OF CANINE AND HUMAN VISCERAL LEISHMANIASIS IN THE MUNICIPALITY OF
CLÁUDIO, WEST MACROREGIONAL OF HEALTH OF MINAS GERAIS, BRAZIL**

Viviane Valadares Lamounier

Mestre, Programa de Pós-graduação em Enfermagem
Universidade Federal de São João del-Rei – *Campus* Centro Oeste
vivianevaladares.saude@yahoo.com.br

Valeriana Valadares Lopes

Doutora, Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde
Universidade Federal de São João del-Rei – *Campus* Centro Oeste
valerianabiomedica@hotmail.com

Marcella Oliveira Gama-Melo

Mestre, Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde
Universidade Federal de São João del-Rei – *Campus* Centro Oeste
marcella.doliveira@gmail.com

Rafael Gonçalves Teixeira Neto

Doutor em Ciências da Saúde
Instituto de Pesquisas René Rachou, Fiocruz, MG
Universidade Federal de São João del-Rei – *Campus* Centro Oeste
rafaelqtn@ufsj.edu.br

José Ronaldo Barbosa

Mestre, Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde
Universidade Federal de São João del-Rei – *Campus* Centro Oeste
Fundação Ezequiel Dias (FUNED), Belo Horizonte, Minas Gerais
ronaldo1rock@gmail.com

Gilberto Fontes

Doutor em Parasitologia
Universidade Federal de Minas Gerais
Universidade Federal de São João del-Rei – *Campus* Centro Oeste
gfontes@ufsj.edu.br

RESUMO

A Organização Mundial de Saúde e o Ministério da Saúde do Brasil preconizam a importância de avaliar a ocorrência de doenças negligenciadas, entre elas as Leishmanioses, em regiões consideradas endêmicas, pois a identificação precoce de áreas de ocorrência dessas enfermidades favorece a implementação de medidas preventivas de forma mais eficaz. **Objetivo:** Determinar a prevalência de leishmaniose visceral (LV) canina, a frequência de LV humana e identificar espécies de *Leishmania* circulantes na cidade de Cláudio, região Centro Oeste de Minas Gerais. **Método:** Foi realizado inquérito sorológico amostral canino na área urbana do município utilizando dois testes imunológicos (imunocromatografia rápida, ensaio imunoenzimático), e diagnóstico sorológico em humanos por três testes (imunocromatografia rápida, ensaio imunoenzimático, imunofluorescência indireta) em residentes de casas com cães parasitados e/ou onde foram capturados *Lutzomyia longipalpis*, inseto vetor de *Leishmania infantum*. **Resultados:** Dos 430 cães examinados, cinco foram sororreagentes nos dois testes imunológicos, com prevalência de 1,2% (IC95%: 0,4%–2,7%). Nas amostras de medula óssea, baço e linfonodos dos cães sororreagentes, foram identificadas formas amastigotas e através do diagnóstico molecular constatou a presença de *L. infantum*, parasito causador da

leishmaniose visceral. Na pesquisa da Leishmaniose visceral humana foram avaliados 74 indivíduos, não sendo identificado nenhum com sorologia positiva. **Conclusão:** É muito importante a implantação de estratégias de prevenção e controle da leishmaniose visceral canina no município, evitando a propagação da parasitose entre a população canina e consequentemente a transmissão para população humana, pois essas enfermidades estão em franca expansão na região Centro Oeste de Minas Gerais, e em humanos pode levar ao óbito se não diagnosticada e tratada precocemente.

Palavras - chave: *Leishmania infantum*. Leishmaniose visceral. Cão. Epidemiologia. Prevalência. Saúde Pública.

ABSTRACT

The World Health Organization and the Ministry of Health of Brazil advocate the importance of assessing the occurrence of neglected diseases, including Leishmaniasis, in regions considered free from these diseases, because early identification of areas where these diseases occur favors a more effective implementation of preventive measures. **Objective:** To determine the prevalence of canine visceral leishmaniasis (VL), the frequency of human VL and to identify *Leishmania* species circulating in the city of Cláudio, in the Midwest of Minas Gerais. **Method:** A canine serological survey was carried out in the urban area of the city using two immunological tests (rapid immunochromatography, and immunoenzymatic assay), and serological diagnosis in humans by using three tests (rapid immunochromatography, immunoenzymatic assay, indirect immunofluorescence) in residents of houses in which there were infected dogs and/or where there were captured *Lutzomyia longipalpis*, insect vectors of *Leishmania infantum*. **Results:** Of the 430 dogs examined, five were seroreagents in both immunological tests, with visceral leishmaniasis prevalence of 1.2% (95% CI: 0.4%–2.7%). In bone marrow, spleen and lymph nodes samples from seroreagents dogs, amastigote forms were identified and, through molecular diagnosis, the presence of *L. infantum*, a parasite that causes visceral leishmaniasis, was found. In the human visceral leishmaniasis study, 74 individuals were evaluated, with none of them being identified with positive serology. **Conclusion:** The implementation of prevention and control strategies for canine visceral leishmaniasis in municipality is essential to prevent the spread of parasitosis among the canine population and its transmission to the human population, since these diseases are rapidly expanding in the Midwest of Minas Gerais, and can lead to death if not diagnosed and treated early.

keywords: *Leishmania infantum*. Visceral leishmaniasis. Dog. Epidemiology. Prevalence. Public Health.

INTRODUÇÃO

A Leishmaniose visceral humana, também conhecida como Calazar, faz parte de um grupo de enfermidades consideradas negligenciadas pela Organização Mundial de Saúde, sendo estimados de 200.000 a 400.000 novos casos por ano no mundo e uma mortalidade anual de 20.000 a 40.000 casos (ALVAR et al, 2012; WHO, 2018). É uma doença causada pelo protozoário *Leishmania infantum* (sinonímia *Leishmania chagasi*) que é transmitido por insetos flebotomíneos (CDC, 2019). Nos seres humanos se não tratada rapidamente pode ser fatal (BRASIL, 2014).

Nas Américas a Leishmaniose visceral humana é prevalente em 12 países, sendo que 96% dos casos estão no Brasil, onde é relatada nas cinco regiões geográficas (OPAS, 2017; BRASIL, 2019a).

O Ministério da Saúde, por meio de dados epidemiológicos, demográficos e pelo impacto, define as leishmanioses entre as sete doenças com prioridade de atuação no programa de controle das doenças negligenciadas (BRASIL, 2010).

No Brasil, o cão doméstico (*Canis familiaris*) é o principal reservatório de *L. infantum* nas áreas urbanas e *Lutzomyia longipalpis*, o principal inseto vetor (BRASIL, 2014). A infecção canina é mais prevalente que a humana e sabe-se que casos caninos precedem casos humanos (BRASIL, 2014). A infecção entre os cães se propaga rapidamente na presença de boas condições para a transmissão, como a alta densidade de insetos vetores e de cães susceptíveis e a soroprevalência de cães é consideravelmente mais elevada que a prevalência de animais sintomáticos (BANETH et al, 2008).

As estratégias de controle propostas pelo Ministério da Saúde incluem avaliação da distribuição dos reservatórios caninos, aplicação de inseticida, diagnóstico e tratamento precoce dos casos humanos, devendo essas ações serem executadas em conjunto para melhor eficácia (BRASIL, 2014).

A letalidade da Leishmaniose visceral humana no Brasil passou de 3,2% no ano 2000, para 7,8% em 2018, destacando-se o estado de Minas Gerais com a segunda maior taxa de letalidade em 2018 entre os estados da região Sudeste, com 10,1%, ficando atrás apenas do estado do Rio de Janeiro que teve uma taxa de letalidade de 12,5% (BRASIL, 2019a).

Na região Centro Oeste de Minas Gerais, a Leishmaniose visceral humana e canina têm se espalhado com rapidez, e municípios até recentemente indenes têm se transformado em áreas endêmicas. Casos de Leishmaniose visceral canina foram notificados em várias cidades da região, algumas com elevadas prevalências como Iguatama com 8,3% (FARIA et al, 2017) e 7,8% em avaliação após eutanásias (VAZ et al, 2020), e 4,6% em Divinópolis (TEIXEIRA-NETO et al, 2014). No período de 2010 até 2018 foram mais de 30 casos de Leishmaniose visceral humana confirmados e notificados no sistema de informação de agravos de notificação da região de saúde Divinópolis/Santo Antônio do Monte (BRASIL, 2019b).

No município de Cláudio, localizado na região Centro Oeste de Minas Gerais, até recentemente, não havia sido detectado nenhum caso humano ou canino de Leishmaniose visceral. Entretanto, em 2015, foi confirmado o primeiro caso autóctone de Leishmaniose visceral canina (LAMOUNIER et al, 2017). Além disso, neste município foram encontrados exemplares de *Lutzomyia longipalpis* (SES/MG, 2016), inseto vetor da *L. infantum*. De acordo com o Manual do Programa de Controle da Leishmaniose visceral do Ministério da Saúde, essas características definem a cidade como uma área silenciosa e receptiva para a transmissão da Leishmaniose visceral (BRASIL, 2014).

Assim, o objetivo deste trabalho foi determinar a prevalência de Leishmaniose visceral canina, determinar as espécies do protozoário *Leishmania* que circulam entre os cães domiciliados e a frequência da Leishmaniose visceral humana na área urbana do município de Cláudio, Minas Gerais.

MÉTODOS

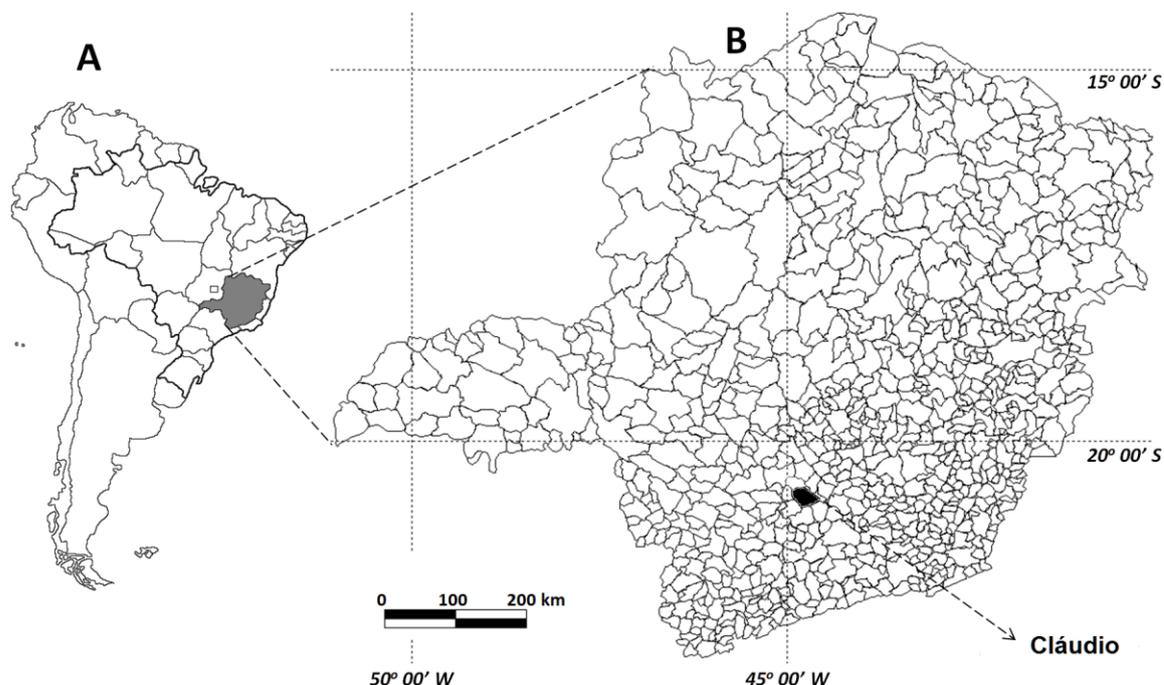
Comitê de ética

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de São João del-Rei (UFSJ) (protocolo número 017/2014), e pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos (CEPES) da Universidade Federal de São João del-Rei (UFSJ) (protocolo número CAAE 37653814.4.0000.5545). Todo o processo da pesquisa envolvendo seres humanos seguiu as recomendações da Resolução nº 466 de 12 de dezembro de 2012 do Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).

Área de estudo

O trabalho foi realizado na cidade de Cláudio (20° 26' 36" S, 44° 45' 57" W), localizada na região Centro Oeste de Minas Gerais (Figura 1), com 630,7 km² e tendo como municípios limítrofes, Carmo da Mata, Itapeçerica, Divinópolis, Carmópolis de Minas e Itaguara (IBGE, 2019). Segundo dados do Sistema de Referencial Geográfico (SISLOC) do Sistema Único de Saúde (SUS), a população urbana de Cláudio em 2014 era de 19.930 habitantes.

Figura 1 – Mapa de localização do município de Cláudio, na região Centro Oeste do estado de Minas Gerais, Brasil. A: América do Sul; B: Estado de Minas Gerais.



Cálculo para obtenção da amostra canina

Trata-se de um estudo transversal por amostragem estratificada realizado na área urbana do município, no período de abril a dezembro de 2015.

Para determinar a população canina da área urbana do município, foram utilizados os dados da campanha de vacinação antirrábica do ano de 2013, que estimava uma população canina de 13,5% em relação à população humana. Segundo dados do Sistema Referencial Geográfico (SISLOC) do Sistema Único de Saúde (SUS), a população urbana de Cláudio em 2014 era de 19.930 habitantes e assim, a população canina da área urbana do município foi estimada em 2.691 animais, ou seja, 1 cão para aproximadamente 7,4 pessoas.

A realização de inquérito sorológico amostral canino é indicada para municípios com transmissão silenciosa, moderada ou intensa de Leishmaniose visceral canina, com população de cães superior a 500 animais, como recomendado pelo Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (BRASIL, 2014).

Para o cálculo da amostra de cães, foi utilizada a Tabela 1 do Manual de Vigilância e Controle de Leishmaniose Visceral (BRASIL, 2014), que determina o tamanho da amostra, de acordo com a população canina estimada e a prevalência esperada, considerando um nível de significância de 5% (BRASIL, 2014). Assim, foi definida uma amostra de 430 cães, em decorrência de a população estimada ter mais de 1.000 animais e a prevalência esperada de 1,1 a 2,0% (usada quando não há dados prévios da existência da parasitose na área) (BRASIL, 2014).

Na amostragem estratificada, os estratos foram definidos por bairros contíguos do município correspondendo aos 6 territórios das Estratégias de Saúde da Família (ESF), sendo trabalhados 50% dos imóveis existentes nos quarteirões, sistematicamente. Com o número de habitantes por extrato

foi possível calcular o número de cães a serem amostrados por territórios, proporcionalmente ao total de cães a serem examinados na área urbana da cidade.

Avaliação sorológica, parasitológica e molecular para determinação da prevalência da Leishmaniose visceral canina

Para o diagnóstico da Leishmaniose visceral canina, o Ministério da Saúde preconiza a realização de dois testes imunológicos, teste imunocromatográfico *Dual Path Platform* DPP® como triagem, e confirmação através do ensaio imunoenzimático ELISA (BRASIL, 2014). Para realização dos dois testes foram utilizados Kits produzidos pela Biomanguinhos/FIOCRUZ, seguindo as recomendações do fabricante.

O teste DPP® para pesquisa de anticorpos *anti-Leishmania* nos cães foi realizado no próprio domicílio do tutor do animal, a partir do sangue obtido por punção auricular. Durante a realização do teste (DPP®) era promovida educação em saúde em relação a doença investigada. Dos cães com DPP® reagente foi colhido 3mL de sangue das veias cefálica ou jugular, para a realização do ELISA. Os exames sorológicos ELISA foram realizados no Laboratório de Parasitologia da Universidade Federal de São João del Rei - *Campus* Centro Oeste, Minas Gerais.

Os cães com exames reagentes nas duas técnicas de diagnóstico imunológico, quando autorizado pelo proprietário, eram recolhidos para realização do procedimento da eutanásia, seguindo as orientações do Manual de Vigilância e Controle de Leishmaniose Visceral do Ministério da Saúde (BRASIL, 2014) e procedimentos exigidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. Os animais eram levados para a sala de cirurgia veterinária no próprio município.

Imediatamente após a realização das eutanásias dos cães, eram coletadas amostras de pele (borda de orelha), baço, linfonodo e medula óssea para serem usadas para o diagnóstico parasitológico, para a confirmação da infecção por parasitos do gênero *Leishmania*. As amostras de baço, linfonodo e pele eram usadas para confecção de lâminas por aposição (*imprint*). As amostras de medula óssea eram utilizadas para confeccionar esfregaços delgados em lâminas. Após o preparo, as lâminas eram fixadas com metanol e após secas, eram coradas com Giemsa por 15 minutos e lavadas em água corrente. As análises das lâminas eram realizadas em microscópio óptico (Zeiss – modelo Axiostar plus) com objetiva de 100x (aumento de 1000x), visando o encontro de formas amastigotas dentro ou fora de macrófagos

Parte das amostras coletadas era mantida na temperatura de -20°C para realização do diagnóstico molecular através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para a região ITS1 (Espaçador Transcrito Interno 1) (EL TAI et al, 2001; GRAÇA et al, 2012). O DNA ribossomal foi amplificado usando os iniciadores: LITSR (5'-CTGGATCATTTTCCGATG-3') e L5.8S (5'-TGATACCACTTATCGCACTT-3'). Aliquotas de 5,0 µL de DNA foram amplificadas utilizando esses iniciadores que estendem um fragmento de 300-350 pares de bases (pb) do gene ITS1. A reação de PCR foi preparada para um volume final de 25 µL utilizando os seguintes reagentes: 2,5 µL de buffer (1X), 0,75 µL de MgCl₂ (1,5 mM), 0,5 µL de dNTPmix (200 µM), 0,25 µL de Taqplatinum® DNA polimerase (1 unidade), 1,25 µL de primer forward (0,2 mM) e 1,25 µL de primer reverse (0,2 mM) (Prodinol) e 13,5 µL de água ultrapura.

A amplificação do DNA molde foi realizada em termociclador (ProFlex PCR System-applied biosystems). A programação utilizada consistiu de aquecimento a 95°C por 2 minutos, seguindo de 32 ciclos nas temperaturas de: 95°C por 20 segundos (desnaturação), 53°C por 30 segundos (anelamento específico dos iniciadores), 72°C por 1 minuto (extensão das fitas), e por um passo de extensão final a 72°C por 6 minutos. Os produtos da amplificação foram aplicados em gel de agarose (1,2%), a corrida foi realizada a 100 volts por 35 minutos. Ao final, o gel foi corado com Sybr Safe DNA Gel Stain e visualizado no transiluminador de fotodocumentação (Life technologies) para captura e análise das imagens do gel.

As amostras que apresentaram a banda específica de 300-350pb para o gênero *Leishmania* foram submetidas à técnica do polimorfismo de tamanho do fragmento de restrição (RFLP), utilizando a

enzima HaeIII (invitrogen), conforme protocolo descrito por Volpini e cols. (2004). Esta endonuclease reconhece a sequência 5'-GGCC-3' e catalisa a clivagem da ligação fosfodiéster nestes sítios formando fragmentos de 184, 72 e 55 pares de base para *Leishmania infantum*. A reação de digestão foi preparada para um volume final de 15 µL, contendo 1µL de HaeIII (10 U/µL), 1,5 µL de tampão da enzima e 12,5 µL do produto de PCR. A mistura foi incubada a 37°C por 3 horas para o processo de digestão. Os perfis de restrição foram analisados em gel de agarose 2,5% e comparados com o padrão obtido pela digestão do produto de PCR de cepas controle de *Leishmania amazonensis* (IFLA/BR/67/PH8), *Leishmania braziliensis* (MHOM/BR/75/M2903) e *Leishmania infantum* (MHOM/BR/74/PP75).

Avaliação sorológica para determinação da frequência da Leishmaniose visceral humana

Para avaliar a frequência de Leishmaniose visceral humana na área urbana do município, foram convidados a participar do estudo os residentes das casas onde foram identificados cães com leishmaniose visceral, os moradores de duas casas a direita e duas casas a esquerda destas residências, e/ou residências onde foram capturados *Lutzomyia longipalpis* conforme resultados do Relatório de Entomologia realizado por técnicos da Secretaria de Estado da Saúde de Minas Gerais (Memo.DVA/SVEAST/Sub VPS – nº 461/2015) (SES/MG, 2016). Após as coletas de sangue, os soros obtidos foram encaminhados para a Fundação Ezequiel Dias (FUNED) para realização dos diagnósticos através dos testes: Imunocromatográfico rápido (it leish da bio rad), ELISA (Vircell) e Imunofluorescência indireta (IFI Bio-manguinhos). Todos participantes foram orientados quanto aos aspectos clínicos da enfermidade em estudo, medidas preventivas e tratamento.

Análise estatística

Os cálculos estatísticos foram realizados utilizando o programa OpenEpi, versão 3.01, e o teste Qui-quadrado com correção de Yates para comparação de prevalências.

RESULTADOS

Inquérito canino na área urbana

Dos 430 cães domiciliados amostrados e examinados nos seis territórios das Estratégias de Saúde da Família (ESF) da área urbana do município, 258 eram fêmeas (60%) e 172 machos (40%). A faixa etária dos cães variou de seis meses a 20 anos, sendo a média de $4,3 \pm 2,1$ anos (IC 95%: 3,9 - 4,6 anos). O maior número de cães avaliados, 266 (61,9%), se encontrava na faixa etária >1 ano<7 anos de idade, seguidos de cães ≤1 ano de idade, 84 (19,5%), e cães ≥7 anos, 80 (18,6%). A maioria dos cães amostrados, 237 (55,1%) não possuía raça definida. As raças encontradas foram: Poodle, Pincher, Pastor Alemão, Shih-tzu e Labrador. Juntas, essas raças somaram 193 (44,9%) animais.

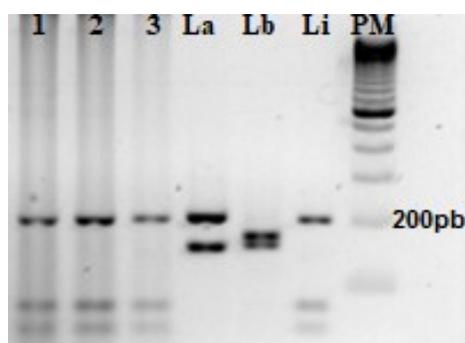
Dos 430 cães, cinco foram reagentes nos testes DPP® e ELISA, sendo a prevalência de Leishmaniose visceral canina na área urbana de Cláudio estimada em 1,2% [IC 95%: 0,4% - 2,7%]. Dos animais sororreagentes, dois eram fêmeas (0,7%) e três machos (1,7%), sem diferença significativa ($p>0,05$). Dos sororreagentes, quatro estavam na faixa etária >1 ano<7 anos (1,5%) e um, na faixa etária >7 anos (0,6%), diferença não significativa ($p>0,05$).

Dos seis territórios das Estratégias de Saúde da Família (ESF) do município, em três foram encontrados animais sororreagentes, com as seguintes prevalências: território 1 (2,0%), território 2 (2,0%) e território 6 (5,6%), não sendo as diferenças significativas ($p>0,05$).

Dos cinco cães sororreagentes um foi a óbito, três tutores optaram pela eutanásia e um tutor não autorizou esta ação. Das lâminas confeccionadas para diagnóstico parasitológico dos três animais eutanasiados, foram identificadas formas amastigotas do parasito nas amostras de medula óssea, baço e linfonodos. Não foi identificada presença de amastigotas nas amostras de pele (borda de orelha). As amostras de baço analisadas dos três animais, através da PCR, foram positivas para o gene ITS1 comprovando que os cães eram portadores de parasitos do gênero *Leishmania*. Para identificação específica, os produtos amplificados das três amostras foram submetidos à

fragmentação pela enzima de restrição *HaeIII* e todos os isolados apresentaram padrão de digestão idêntico a cepa de referência de *Leishmania infantum* (Figura 2), confirmando que os cães estavam infectados pela espécie causadora da Leishmaniose visceral.

Figura 2 – Produto amplificado da reação em Cadeia da Polimerase (PCR) de amostras de baço dos cães positivos para LVC: Gel de agarose 2,5%, perfil de digestão do DNA de *Leishmania* (ITS1) utilizando a enzima digestiva *HaeIII*. PM = Padrão de Peso Molecular; 1-2-3 Amostras de baço de cães. La = Controle Positivo de *Leishmania amazonensis* (IFLA/BR/67/PH8); Lb = Controle Positivo de *Leishmania braziliensis* (MHOM/BR/75/M2903) e Li - Controle Positivo de *Leishmania infantum* (MHOM/BR/74/PP75).



Dos cinco cães portadores de *Leishmania infantum*, três (60%) eram assintomáticos e dois (40%) sintomáticos, com idade $5,0 \pm 1,5$ anos (IC 95%: 2,0 - 8,0). Dois eram fêmeas, uma Poodle e a outra sem raça definida e três machos, sem raça definida.

Foram encontrados no município de Cláudio, conforme resultados do Relatório de Entomologia da Secretaria Estadual de Saúde de Minas Gerais, três espécies de insetos vetores dos parasitos causadores das leishmanioses, *Lutzomyia whitmani*, *L. intermedia* e *L. longipalpis*, sendo esta última espécie, vetor comprovado do agente da Leishmaniose visceral. Exemplos de *L. longipalpis* foram capturados em três dos seis territórios da área urbana do município (territórios 2, 4 e 6).

Inquérito humano na área urbana

Dos seis territórios das ESF da zona urbana de Cláudio, em quatro foram identificadas presença de cão com *Leishmania infantum* e/ou presença do inseto *L. longipalpis*. Nesses quatro territórios foram examinadas 74 seres humanos, 53 (71,6%) mulheres e 21 (28,4%) homens, correspondendo a uma relação de 2,5:1 mulher/homem. A faixa etária variou de 2 a 81 anos. A maior proporção de pessoas avaliadas se encontrava na faixa acima de 18 anos (73%), seguidas das pessoas entre 11 a 18 anos (15%) e das pessoas que tinham menos de 11 anos (12%).

Dos 74 moradores avaliados, 51 (68,9%) viviam em residências com peridomicílio que possuía plantas, árvores e arbustos; 19 (25,7%) residiam em locais com peridomicílio apresentando acúmulo de matéria orgânica como resto de alimentos, cascas em hortas, papéis, entre outros e/ou presença de galinheiro no terreno; 4 (5,4%) dos moradores residiam em locais com peridomicílio que tinham entulho.

Das 74 pessoas examinadas 9 (12,2%) eram residentes em casas de cães positivos e/ou vetores identificados e 65 (87,8%) moradoras de casas vizinhas.

Não houve nenhum ser humano sororreagente para Leishmaniose visceral entre os avaliados.

DISCUSSÃO

Sabe-se que a da Leishmaniose visceral canina está em franca expansão em todo o Brasil, mas até 2015, o município de Cláudio, Minas Gerais, era tido como área indene para essa parasitose. A descrição do primeiro caso autóctone (LAMOUNIER et al., 2017) mostrou a importância da realização de um inquérito epidemiológico para conhecer a realidade dessa protozoose em área considerada silenciosa pelo Ministério da Saúde. A prevalência constatada serve como alerta para os profissionais de saúde sobre a circulação do parasito *L. infantum* em reservatórios domésticos. Este resultado é semelhante ao encontrado em Florianópolis, Santa Catarina, onde a Leishmaniose visceral canina era tida como inexistente até 2011, quando foi identificada a soroprevalência de 1,4% de cães infectados com *L. infantum*, sendo considerado o primeiro encontro de casos autóctones naquela região (STEINDEL et al, 2013). Em 2017 foram confirmados os três primeiros casos de Leishmaniose visceral humana em Florianópolis, Santa Catarina (SBMT, 2017; SMSF/SC, 2017). No estado de Rondônia, região Norte do Brasil, o primeiro caso autóctone de Leishmaniose visceral canina foi descrito em 2018 (SILVA et al, 2018), mostrando a expansão desta parasitose por todo o país.

Na região Centro Oeste de Minas Gerais e adjacências, pesquisas recentes mostram localidades com prevalências de Leishmaniose visceral canina mais elevadas em relação àquela detectada em Cláudio, como 4,6% em Divinópolis (TEIXEIRA-NETO et al, 2014), 7,8% em Iguatama (VAZ et al, 2020), 7,7% em Serra da Saudade (OLIVEIRA et al, 2019), 11,0% em Juatuba (BORGES et al, 2014). No município de Carmo da Mata, contíguo a Cláudio, foi encontrada soroprevalência de Leishmaniose visceral canina (0,7%) (GAMA-MELO et al, 2019), muito semelhante ao estudo atual. Normalmente elevadas taxas de soropositividade em populações caninas variam entre diferentes regiões e a presença de cães infectados é fator de risco para a ocorrência de casos humanos (TEIXEIRA-NETO et al, 2014; OLIVEIRA et al, 2001).

Foi verificado que o território com maior predominância de Leishmaniose visceral canina em Cláudio foi a ESF 6 (5,6%) localizado em região mais afastada do centro da cidade e com grande presença de áreas verdes. Em estudo similar em Juatuba, MG, foram encontradas maiores prevalências em bairros de periferias com presença de sítios, áreas verdes, criações e aglomeração canina (BORGES et al, 2014). Algumas destas características foram encontradas nos territórios de Cláudio onde haviam cães com a doença. A identificação da Leishmaniose visceral canina por áreas específicas da zona urbana facilita no direcionamento de medidas de vigilância e controle da doença, permitindo assim, aplicar estratégias mais eficientes. Não foram identificados casos de Leishmaniose visceral canina em três territórios das ESF, sendo dois na região central do município. Sugere-se que algumas características presentes nos territórios como ruas pavimentadas, escassas áreas de mata e pouca presença de criações próximas às residências, expliquem a ausência de casos. Em relação aos cães sororreagentes, não foi possível afirmar diferença significativa entre fêmeas e machos, bem como, não foi observado diferença na média de idade entre cães reagentes e não reagentes, confirmando os resultados obtidos por pesquisadores em outras regiões (ALMEIDA et al, 2009; SANTIS et al., 2013).

Dados da pesquisa apontam que mais da metade dos cães não tinham raça definida. Estas informações foram identificadas também em outros trabalhos, sugerindo que o elevado número de cães sem raça definida pode ser em decorrência da facilidade de acesso da população em obter estes animais, devido ao enorme número de cães de rua e a reprodução desordenada destas fêmeas (BORGES et al., 2014; GOMES, 2007).

O diagnóstico parasitológico com especificidade de 100% é considerado o padrão ouro para o diagnóstico da leishmaniose visceral, e a sensibilidade é modificada de acordo com o tecido analisado. No presente estudo foi possível observar amastigotas nos tecidos do baço, linfonodos e medula óssea dos cães eutanasiados, não sendo encontradas apenas nos tecidos da pele (borda da orelha). Percebe-se que a sensibilidade da técnica de diagnóstico parasitológico depende de algumas variáveis, como o grau do parasitismo, entre outras (LAURENTI, 2009).

No teste molecular PCR foi possível identificar a circulação da espécie *L. infantum* causadora da leishmaniose visceral. Em pesquisa realizada em comunidades quilombolas no município de

Inhangapi, Pará, foi possível detectar a infecção por *L. infantum* em cães (SILVA et al, 2017). Estes dados mostram a importância da caracterização da espécie de *Leishmania*, visto que, corrobora com o direcionamento das ações de controle da parasitose em área de transmissão.

Ao analisar os cães com leishmaniose, a maioria (60%) eram assintomáticos, apresentando aparência saudável. Esta informação é importante, considerando que mesmo sem sinais clínicos, os cães apresentam parasitismo cutâneo, sendo capazes de conviver com o parasito por longos períodos e transmiti-lo ao inseto vetor (MAGALHÃES-JUNIOR et al, 2006). O cão é o principal responsável pelo ciclo epidemiológico de transmissão da Leishmaniose visceral na área urbana, e compreende-se que a infecção canina precede a ocorrência de casos humanos (BRASIL, 2014).

O não encontro de casos de Leishmaniose visceral humana em Cláudio, analisando moradores de área de risco é um dado importante, mas deve-se estar atento para a transmissão, pois a enfermidade é severa e leva o ser humano a óbito se não tratado precocemente. A doença humana às vezes é subnotificada ou não notificada, pela falta do diagnóstico correto e precoce. Na região Centro Oeste de Minas Gerais tem sido notificado óbitos pela *Leishmania infantum* em áreas onde a Leishmaniose visceral canina tem se mostrado prevalente. Portanto, é muito importante alertar os profissionais da saúde sobre esta parasitose que vem expandindo por todo o país e deste modo, planejar ações preventivas e de controle.

Os resultados obtidos neste trabalho foram compartilhados com a população através audiência pública e mídia, encaminhados para o Gestor da Saúde, Coordenador da Vigilância em Saúde do município e a Superintendência Regional de Saúde de Minas Gerais a qual a cidade de Cláudio pertence. Foram ainda realizadas capacitações para os profissionais da saúde sobre a Leishmaniose visceral e ampliação da realização dos testes imunológicos para o diagnóstico da LVC no município.

CONCLUSÃO

Foi demonstrada a existência de Leishmaniose visceral canina em área tida, até então pelo Ministério da Saúde, como silenciosa para essa zoonose.

A realização de inquéritos para detecção da Leishmaniose visceral canina é uma ação importante no controle do cão como reservatório da *L. infantum* e na caracterização de municípios que são tidos como silenciosos em relação à doença.

Considerando o cão como principal reservatório da *L. infantum* no meio urbano e apesar da prevalência da doença canina não ser ainda tão elevada como em outras localidades próximas a Cláudio, MG, é de grande importância a implantação de estratégias de prevenção e controle, de forma integrada com diferentes setores, a fim de evitar a propagação da doença entre a população canina e o surgimento de Leishmaniose visceral humana, doença severa, em franca expansão no Brasil e que se não tratada pode levar o paciente à morte.

AGRADECIMENTO

A Secretaria Municipal de Saúde de Cláudio, MG, pelo suporte e logística para a realização dos trabalhos de campo, a Tony Hiroshi Katsuragawa pela confecção do mapa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, A. B. P. F. et al. Seroepidemiological survey of canine leishmaniasis in endemic areas of Cuiabá, State of Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 2, p. 156-159, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822009000200012>

ALVAR J. et al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. **PLoS One** 7(5):e35671, 2012. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035671>

BANETH G. et al. Canine leishmaniosis - new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. **Trends in Parasitology**. v. 24, n.7, p. 324-330, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2008.04.001>

BORGES, L. F. N. M. et al. Prevalência e distribuição espacial da leishmaniose visceral em cães do município de Juatuba, Minas Gerais, Brasil. **Ciência Rural**, v. 44, n. 2, p. 352-357, 2014. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782014000200025>

BRASIL. Ministério da Saúde. Doenças negligenciadas: estratégias do Ministério da Saúde. **Revista de Saúde Pública**, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rsp/v44n1/23.pdf>>. Acesso em: 31 out. 2019. <https://doi.org/10.1590/S0034-89102010000100023>

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral**. Brasília: 1ª ed., 5. reimpr., 2014. <http://bvsm.sau.gov.br/bvsm/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmaniose_visceral_1edio.pdf>. Acesso em: 31 out. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Leishmaniose visceral - casos confirmados notificados no sistema de informação de agravos de notificação - Minas Gerais. **Tabnet datasus, 2019b**. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinanet/cnv/leishvmg.def>>. Acesso em: 29 jan. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN). **Situação Epidemiológica da leishmaniose visceral – LV letalidade, 2019a**. Disponível em: <<https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/outubro/14/LV-Letalidade.pdf>>. Acesso em: 31 out. 2019.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. **Parasites Leishmaniasis, 2019**. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/>>. Acesso em: 29 jan. 2020.

EL TAI, N. O. et al. *Leishmania donovani*: Intraspecific polymorphisms of Sudanese isolates revealed by PCR-based analyses and DNA sequencing. **Experimental Parasitology**, v 97, n.1, p. 35-44, 2001. <https://doi.org/10.1006/expr.2001.4592>

FARIA, M. T. et al. Autochthonous case of canine visceral Leishmaniasis in a non-endemic area in Minas Gerais, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 12, p. 1505-1508, 2017. <https://doi.org/10.1590/s0100-736x2017001200023>

GAMA-MELO, M. O. et al. Evaluation of canine leishmaniasis and concomitant seropositivity for *Babesia canis* and rickettsia in a nonendemic area in the central west region of Minas Gerais. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 41, e. 101819, p. 1-9, 2019. <https://doi.org/10.29374/2527-2179.bjvm101819>

GOMES, L. V. **Prevalência de leishmaniose visceral canina na zona rural do município de Varzelândia, Minas Gerais, Brasil**. [Dissertação]. Ouro Preto (MG): Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, 2007. <https://www.repositorio.ufop.br/bitstream/123456789/2970/1/DISSERTA%3%87%3%83O_Preal%3%ancia%20LeishmanioseVisceral.PDF>. Acesso em: 31 out. 2019.

GRAÇA, G. C. et al. Development and validation of PCR-based assays for diagnosis of American cutaneous leishmaniasis and identification of the parasite species. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, n. 5, p. 664-674, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762012000500014>

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Cidades: Cláudio**. Minas Gerais: 2019. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mg/claudio/panorama>>. Acesso em: 31 out. 2019.

LAMOUNIER, V. V. et al. Leishmaniose visceral canina autóctone em área indene no Centro Oeste de Minas Gerais, Brasil. **Medicina Veterinária Recife**, v. 11, n. 3, p. 179-184, 2017. <https://doi.org/10.26605/medvet-n3-1779>

LAURENTI, M. D. Correlação entre o diagnóstico parasitológico e sorológico na leishmaniose visceral americana canina. **Boletim Epidemiológico Paulista**, v. 6, n. 67, 2009. <http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-42722009000700002&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 31 out. 2019.

MAGALHÃES-JUNIOR, J. T. et al. Xenodiagnosis on dogs with visceral leishmaniasis: Canine and sand fly aspects related to the parasite transmission. **Veterinary Parasitology**, v. 223, n. 15, p. 120-126, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.04.031>

OLIVEIRA, C. D. L. et al. Spatial distribution of human and canine visceral leishmaniasis in Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brasil, 1994-1997. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 17, n. 5, p. 1231-1239, 2001.

OLIVEIRA, J. C. et al. Prevalência de leishmaniose visceral canina e coinfeções com Rickettsias no município de Serra da Saudade, Minas Gerais. In: **Anais do 55º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. Belo Horizonte, MG. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 2019. p. 198. <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2001000500023>

OPAS. Organização Pan-americana da Saúde. **Leishmanioses: Informe Epidemiológico nas Américas**, 2017. Disponível em:<http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/34113/informe_leishmanioses_5_por.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 10 nov. 2017.

SANTIS, B. et. al. Performance of DPP™ immunochromatographic rapid test (IRT) for canine visceral leishmaniasis: comparison with other serological methods in suspected dogs from Cuiabá, Mato Grosso State, Brazil. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**, v. 50, n. 3, p. 198-205, 2013. Disponível em:<https://www.researchgate.net/publication/287291238_Performance_of_DPPTM_immunochromatographic_rapid_test_IRT_for_canine_visceral_leishmaniasis_Comparison_with_other_serological_methods_in_suspected_dogs_from_Cuiaba_Mato_Grosso_State_Brazil>. Acesso em: 31 out. 2019.

SBMT. Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. Newsletter 75. **Segundo caso autóctone de calazar é confirmado em Florianópolis**, 2017. Disponível em:<<https://www.sbmt.org.br/porta/segundo-caso-autoctone-de-calazar-e-confirmado-em-florianopolis/>>. Acesso em: 31 out. 2019.

SES/MG. Secretaria de Estado de Saúde/MG. **Nota Técnica nº 030/2016 de 04 de julho de 2016: situação epidemiológica da Leishmaniose Visceral da URS - Divinópolis, Minas Gerais**. Belo Horizonte: SES/MG, 2016. https://www.saude.mg.gov.br/images/documentos/Boletim%20Epidemiol%C3%B3gico%20Leishmaniose_2016.pdf

SMSF/SC - Secretaria Municipal de Saúde Florianópolis/SC. Diretoria de Vigilância em Saúde; Gerência de Vigilância Epidemiológica - SMS, Florianópolis, SC. **Alerta Epidemiológico: Leishmaniose visceral humana**, 2017. Disponível em:<http://www.pmf.sc.gov.br/arquivos/arquivos/pdf/14_12_2017_14.52.54.2be8663cb5c0d895f08fe96e401a304e.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2020.

SILVA, A. F. et al. *Leishmania infantum* infection in dogs from maroon communities in the Eastern Amazon. **Ciência Rural**, v. 47, n. 1, p. 1-6, 2017. Disponível em:<http://www.scielo.br/pdf/cr/v47n1/1678-4596-cr-0103_8478cr20160025.pdf>. Acesso em: 31 out. 2019.

SILVA C. J. et al. First autochthonous case of canine visceral leishmaniasis in Rondônia, Brazil, a region with no history of visceral leishmaniasis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 51, n. 5, p. 712-715, 2018. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0143-2017>

STEINDEL, M. et al. Outbreak of autochthonous canine visceral leishmaniasis in Santa Catarina, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 4, p. 490-496, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2013000400013>

TEIXEIRA-NETO, R. G. et al. Canine visceral leishmaniasis in an urban setting of Southeastern Brazil: an ecological study involving spatial analysis. **Parasites & Vectors**, v. 7, n. 485, p. 1-10, 2014. <https://doi.org/10.1186/s13071-014-0485-7>

VAZ, T. P. et al. Evaluation of the euthanasia of seropositive dogs with visceral canine leishmaniasis as the only method of control of the disease in the enzootic area in the Center West of Minas Gerais, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 40, n. 2, p. 107-112, 2020. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-pvb-6165>

VOLPIN, A. C. et al. PCR-RFLP to identify *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *L. (Leishmania) amazonensis* causing American cutaneous leishmaniasis. **Acta Tropica**, v. 90, n. 1, p. 31-37, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2003.10.008>

WHO. World Health Organization. **Leishmaniasis – Situation and trends, 2018**. World Health Organization, Geneva, 2018. Disponível em: <<http://www.who.int/leishmaniasis/en/>>. Acesso em: 05 set. 2018.