

---

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

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

Received: 23-03-2024 | Accepted: 25-04-2024 | Published: 01-05-2024

---

#### **Tábata Pereira Dias**

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

Universidade Federal de Pelotas, Brasil

E-mail: [tabata\\_pd@yahoo.com.br](mailto:tabata_pd@yahoo.com.br)

#### **Fabiano Borges Figueiredo**

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

Instituto Carlos Chagas - Fiocruz, Brasil

E-mail: [fabiano.figueiredo@fiocruz.br](mailto:fabiano.figueiredo@fiocruz.br)

#### **Gustavo Gonçalves**

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

Instituto Carlos Chagas - Fiocruz, Brasil

E-mail: [gustavogonsalves@live.com](mailto:gustavogonsalves@live.com)

#### **Vitória Ramos de Freitas**

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

Universidade Federal de Pelotas, Brasil

E-mail: [vitoriabars@hotmail.com](mailto:vitoriabars@hotmail.com)

#### **Maria Eduarda Rodrigues**

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

Universidade Federal de Pelotas, Brasil

E-mail: [eduarda.rodrigueset@gmail.com](mailto:eduarda.rodrigueset@gmail.com)

#### **Francesca Lopes Zibetti**

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

Universidade Federal de Pelotas, Brasil

E-mail: [franlz134@yahoo.com.br](mailto:franlz134@yahoo.com.br)

#### **Marlete Brum Cleff**

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

Universidade Federal de Pelotas, Brasil

E-mail: [marletecleff@gmail.com](mailto:marletecleff@gmail.com)

---

### ABSTRACT

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

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

---

### RESUMO

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

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

---

## INTRODUÇÃO

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

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

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

Em virtude do processo de expansão da LV para a região sul do Brasil, com registros de casos autóctones em municípios próximos a Pelotas e região, como Porto Alegre (CEVS-RS, 2022), assim como no país de fronteira Uruguai (SALOMÓN *et al.*, 2008). E diante das dificuldades operacionais de vigilância epidemiológica em áreas consideradas indenes, objetivou-se realizar inquérito soropidemiológico canino segundo a nota técnica vigente (BRASIL, 2011), avaliar a distribuição geográfica dos animais sororreagentes em Pelotas e nos municípios que integraram o estudo, assim como analisar os possíveis fatores predisponentes à enfermidade na região.

## METODOLOGIA

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

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

Todas as amostras foram investigadas através de uma análise retrospectiva a partir do histórico clínico-epidemiológico para as variáveis: sexo, raça, porte (KLAUSNER,

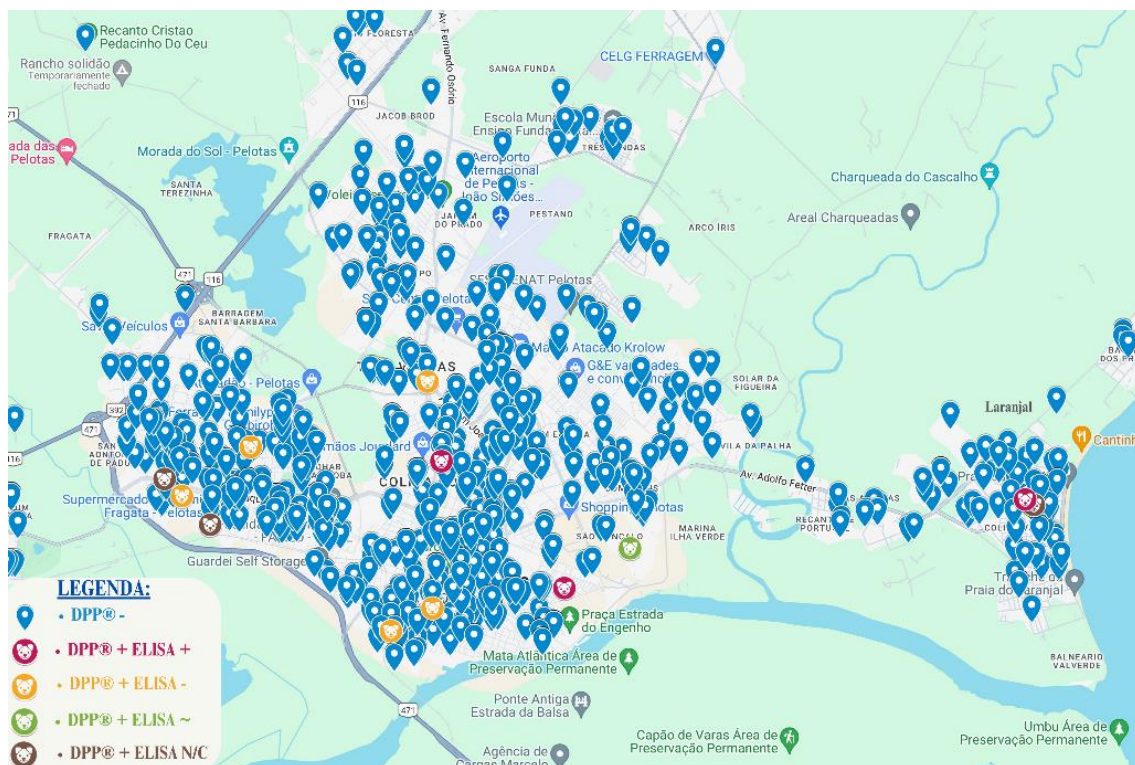
2013), fase de desenvolvimento (FORTNEY, 2012), município e bairro de residência quando possível. Quanto à variável bairro, para o município de Pelotas-RS foi criada uma classificação denominada “Prefeitura” para os animais resgatados pelo órgão municipal e encaminhados para o HCV-UFPel uma vez que não havia identificação precisa do bairro em que os animais eram recolhidos e em virtude de ser um número de amostras importante para o trabalho. Os testes foram tabelados em planilha eletrônica do Excel® para posterior análise descritiva.

## RESULTADOS

Foram testadas 2365 amostras de soros de cães atendidos no HCV-UFPel no período de janeiro de 2021 a janeiro de 2024 segundo o protocolo do MS (BRASIL, 2011). O hospital universitário é referência na região estudada e conta com diversas especialidades, sendo inclusive encaminhados para atendimento animais com histórico complexo de investigação médica precedente pela qualidade do serviço prestado. Os pacientes atendidos no HCV-UFPel não tinham suspeita de LVC. Foram sororreagentes no teste de triagem (DPP®) 0,8% (19/2365) das amostras. Dessas, também foram sororreagentes no teste confirmatório ELISA (Bio-Manguinhos®) 37% (7/19) das amostras, 5,2% (1/19) foi inconclusiva, 42% (8/19) negativas e para 21% (4/19) das amostras não foi possível realizar o teste de ELISA. Os animais sororreagentes em ambos os testes residiam nos municípios de Pelotas (4), Rio Grande (1), Bagé (1), São Borja (1). Àqueles que não residiam em Pelotas estavam na cidade a passeio e alguns visitavam o município com frequência.

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

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



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

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

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

Do total de cães incluídos no estudo (2365) eram machos 46% (1092/2365) e 54% (1273/2365) eram fêmeas. Verificou-se a predominância de cães de porte médio com 35% (819/2365) e porte grande com 29% (693/2365). A maioria dos animais eram *seniors*, o que representou 39% (930/2365) dos cães (Tabela 1). Também foi maioria os animais SRD correspondendo a 60% (1413/2365), e 40% (952/2365) eram cães de raça, destacando-se as raças *Shih-tzu* e *American Pitbull Terrier* com 5,6% e 4%, respectivamente.

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

Idade	Porte				
	Extragrande	Grande	Médio	Pequeno	Não consta
<b>Jovem</b>	2	52	132	90	5
<b>Adulto</b>	9	80	175	152	21
<b>Idoso</b>	8	142	208	114	10
<b>Sênior</b>	38	380	256	239	17
<b>Não Informado</b>	7	39	48	36	105
<b>Total</b>	<b>64</b>	<b>693</b>	<b>819</b>	<b>631</b>	<b>158</b>

Fonte: Dias, et al (2024, p5)

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

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

Municípios	Nº	%
Pelotas	1670	70,6
Rio Grande	277	11,7
Capão do Leão	231	9,8
Ecosul	78	3,3
São Lourenço do Sul	31	1,3
Outros	78	3,3
<b>Total</b>	<b>2365</b>	<b>100%</b>

Fonte: Dias, et al (2024, p7)

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

Pelotas			Rio Grande			Capão do Leão		
Bairro	Nº	%	Bairro	Nº	%	Bairro	Nº	%
Centro	376	22,5	Balneário Cassino	79	28,5	Jardim América	164	71,0
Fragata	328	19,6	Centro	68	24,5	Centro	27	11,7
Prefeitura	288	17,2	Cidade Nova	19	6,9	Palma	18	7,8
Três			Parque Res. São					
Vendas	238	14,3	Pedro	15	5,4	Cerro do Estado	13	5,6
			Miguel de Castro					
Areal	173	10,4	Moreira	11	4,0	Outros	9	3,9
Laranjal	130	7,8	Parque Marinha	11	4,0			
Porto	89	5,3	Outros	74	26,7			
Outros	48	2,9						
	<b>1670</b>	<b>100%</b>		<b>277</b>	<b>100%</b>		<b>231</b>	<b>100%</b>

Fonte: Dias, et al (2024, p7)

## DISCUSSÃO

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

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



Alguns autores sugerem a inversão da ordem do protocolo, sugerindo o ELISA para triagem e o DPP® como confirmatório devido à alta especificidade e valor preditivo positivo (VPP) do DPP® (DA SILVA *et al.*, 2013; LAURENTI *et al.*, 2014). Porém os parâmetros de VPP (probabilidade de um indivíduo com resultado positivo no teste estar realmente doente) assim como valor preditivo negativo (probabilidade de um indivíduo com resultado negativo no teste estar realmente hígido) e acurácia são variáveis sendo dependentes da prevalência da doença de determinada região (KAWAMURA, 2002), sendo assim, em locais com baixa prevalência de LVC o VPP diminui e o VPN aumenta. Outros pesquisadores defendem ainda que o diagnóstico da LVC deveria ser realizado com testes em paralelo, ou seja, ao testar uma amostra com dois testes de maneira concomitante e uma delas for positiva, o animal seria considerado doente (DE BLAS *et al.*, 2000), favorecendo o aumento da sensibilidade combinada dos testes. Porém, o Ministério da Saúde apesar de utilizar a metodologia de associação de testes diagnósticos para o diagnóstico da enfermidade, o faz em série, submetendo a amostra ao segundo teste somente quando o primeiro for positivo, sendo apenas considerado doente o animal cuja amostra seja positiva em ambos os testes realizados, aumentando a especificidade combinada (DE BLAS *et al.*, 2000). A associação em série é preconizada pelo MS porque aumenta a especificidade e também diminui os custos na operacionalização do diagnóstico (DE BLAS *et al.*, 2000).

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

A menor sensibilidade do teste para animais assintomáticos ocorre porque o título de anticorpos produzidos na LVC está relacionado, geralmente, com a manifestação de sinais clínicos e pela probabilidade de identificação de animais nessas áreas (MAIA &

CAMPINO, 2008). Mesmo assim, entre os testes diagnósticos sorológicos disponíveis para a enfermidade, o DPP® tem sido descrito como um dos mais confiáveis (FIGUEIREDO *et al.*, 2018; RIBEIRO *et al.*, 2019). Ribeiro *et al.*, (2019) demonstraram que o DPP® apresentou sensibilidade superior (97,9%), bem diferente da observada por Grimaldi *et al.*, (2012) (47%) em animais assintomáticos. Assim como Laurenti *et al.* (2014), que relataram sensibilidade de 90,6% no mesmo teste em animais com ou sem sinais de LVC.

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

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

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

que a vigilância epidemiológica dos municípios realizem investigações que visem elucidar o contexto da possível implantação da doença, se confirmada.

Ao avaliar a concordância dos resultados dos testes com o estado de infecção dos animais, Ribeiro *et al.*, (2019) observaram que o DPP® foi o teste com maior índice de concordância *kappa* (0,92) e que foi o único teste com classificação de concordância quase perfeita. Além disso, relataram que o DPP® reconheceu o maior número de verdadeiros positivos no seu estudo, apresentando apenas três falsos negativos e atingindo 96,8% de acerto. Esses resultados encorajam a utilização desse teste em inquéritos e reforçam a relevância dos resultados encontrados no nosso trabalho que identificou dezenove amostras sororreagentes nesse teste, sendo confirmadas sete com o ELISA.

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

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

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

parasita em áreas indenes, viabiliza que vetores nativos possam se infectar e se adaptar para transmitir o protozoário (RÊGO *et al.*, 2020).

De acordo com a literatura, presume-se que a expansão da LV para o Sul do Brasil tenha ocorrido quando milhares de trabalhadores foram deslocados constantemente do Nordeste, uma área endêmica para LV, para a construção do gasoduto Bolívia Brasil (PASQUALI *et al.*, 2019). De forma análoga, o município de Rio Grande-RS, por ter um pólo naval, conta com intenso fluxo de trabalhadores imigrados para trabalhar. Ainda, tanto Pelotas-RS como Rio Grande-RS têm pólos universitários federais, o que também favorece o fluxo intenso de pessoas de várias partes do Brasil, muitas vezes acompanhados por seus animais de companhia, como foi verificado para um dos animais sororreagentes que residia em Pelotas nos períodos de aula mas voltava para Uruguaiana durante as férias da universidade, favorecendo a circulação do parasito.

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

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

Quanto à localidade de residência dos animais sororreagentes no DPP® (19/2365), é importante ressaltar que os bairros com maior número de casos positivos no teste de

triagem (Centro e Fragata com 15,8% de casos cada) foram também aqueles que tinham as maiores porcentagens de amostras testadas no município (22,5% e 19,6% respectivamente), aumentando portanto a chance de encontrar um animal sororreagente. Ainda, por se tratar de uma amostragem por conveniência, esperou-se que a maioria das amostras fossem do município de Pelotas-RS, principal população atendida no hospital.

Importante destacar a proximidade geográfica entre os animais considerados infectados (ícone da cor rosa) conforme ilustrado na Figura 1, fato que requer cuidados e serve como alerta para os órgãos oficiais, porque uma vez que haja a instalação do vetor, a infecção e transmissão poderá ser exponencial na área de concentração dos animais infectados, tornando-se importante o monitoramento dessas áreas e encoleiramento dos cães. Desde 2021, o MS iniciou a distribuição de coleiras impregnadas com inseticida como uma ferramenta de controle de LVC nos municípios prioritários do país e tem alcançado resultados promissores com diminuição de 27% na incidência de LVH durante o período de teste (WERNECK *et al.*, 2024). Embora sejam resultados animadores sabe-se da limitação de recursos públicos para a implantação dessa medida de forma homogênea nos municípios, sendo por isso priorizados os locais endêmicos. No entanto, ao identificar uma área com a presença de animais sororreagentes, mesmo em áreas indenes essa medida seria uma ferramenta necessária visando a prevenção.

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

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

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

## CONCLUSÃO

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

## AGRADECIMENTOS

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

## REFERÊNCIAS

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

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. v. 1, Brasília: Ministério da Saúde, 2014. Acessado em 05 ago. 2023. Online. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_vigilancia\\_controle\\_leishmaniose\\_visceral\\_1edicao.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmaniose_visceral_1edicao.pdf). Acesso em 20 jan. 2023.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

LARA-SILVA, F. O. *et al.* *Rattus norvegicus* (Rodentia: Muridae) infected by *Leishmania* (*Leishmania*) *infantum* (syn. *Le. chagasi*) in Brazil. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.

LAURENTI, M. D. *et al.* Asymptomatic dogs are highly competent to transmit *Leishmania* (*Leishmania*) *infantum chagasi* to the natural vector. **Veterinary parasitology**, v. 196, n. 3-4, p. 296-300, 2013.

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

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

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

MICHELIN, A. de F. *et al.* Factors associated with positivity for canine visceral leishmaniasis in an endemic area in Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 12, p. 13-16, 2018.

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

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

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



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ZANETTE, M. F. *et al.* Serological cross-reactivity of *Trypanosoma cruzi*, *Ehrlichia canis*, *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Babesia canis* to *Leishmania infantum* *chagasi* tests in dogs. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n.

1, p. 105-107, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24603745/>. Acesso em 05 jan. 2024.