

Universidade Federal do Maranhão  
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde  
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

**LEISHMANIOSE VISCERAL EM SÃO LUÍS: uma avaliação  
após a descontinuidade do programa de controle de zoonoses**

RANIELLY ARAUJO NOGUEIRA

SÃO LUÍS

2018

RANIELLY ARAUJO NOGUEIRA

**LEISHMANIOSE VISCERAL EM SÃO LUÍS: uma avaliação  
após a descontinuidade do programa de controle de zoonoses**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientação: Prof. Dr. Rafael Cardoso Carvalho

SÃO LUÍS

2018

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a)  
autor(a). Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Nogueira, Ranielly Araujo.

LEISHMANIOSE VISCERAL EM SÃO LUÍS: uma avaliação após  
a descontinuidade do programa de controle de zoonoses /  
Ranielly Araujo Nogueira. - 2018.

82 f.

Orientador(a): Rafael Cardoso Carvalho.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em  
Ciências da Saúde/ccbs, Universidade Federal do  
Maranhão, São Luís, 2018.

1. Endemia. 2. Epidemiologia. 3. Leishmaniose  
visceral. 4. Maranhão. 5. Zoonoses. I. Carvalho, Rafael  
Cardoso. II. Título.

RANIELLY ARAUJO NOGUEIRA

**LEISHMANIOSE VISCERAL EM SÃO LUÍS: uma avaliação  
após a descontinuidade do programa de controle de zoonoses**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Aprovada em        /        /

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Rafael Cardoso Carvalho  
Universidade Federal do Maranhão  
(Orientador)

---

Profa. Dra. Joicy Cortez de Sá  
Universidade Ceuma  
(Examinadora)

---

Profa. Dra. Ana Lucia Abreu Silva  
Universidade Estadual do Maranhão  
(Examinadora)

---

Profa. Dra. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento  
Universidade Federal do Maranhão  
(Examinadora)

“Tudo o que um sonho precisa para ser realizado é alguém que acredite que ele possa ser realizado.”

Roberto Shinyashiki

Dedico esta dissertação a minha família: Marilda, Rafael,  
Daniel, Heitor e Denise, pelo apoio, principalmente  
emocional, para que eu chegasse até aqui.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus por ter me dado forças para superar as dificuldades nesta jornada.

Agradeço a toda minha família pelo apoio e carinho: Marilda Araujo, Rafael Araujo, Heitor Araujo, Denise Cutrim e José Carlos.

Ao meu namorado, Daniel Nascimento, que me deu forças, amparou nos momentos difíceis desta caminhada e teve muita paciência comigo nos momentos de estresse.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Rafael Cardoso Carvalho, da Universidade Federal do Maranhão – *campus* Chapadinha, pelo apoio e por estimular sempre a busca pelo conhecimento. Obrigada pelo seu carinho e preocupação comigo.

A Prof. Dra. Ana Lúcia Abreu Silva, da Universidade Estadual do Maranhão, que me recebeu de portas abertas, a quem agradeço também pela oportunidade de cursar o mestrado e com quem tanto aprendi ao longo destes dois anos.

À minha amiga, companheira de pesquisa, “duplinha”, Gabriela Sampaio, pelos desabafos, e que não mediu esforços para que terminássemos nossas pesquisas. Sem você dividindo o peso desse trabalho eu jamais teria conseguido.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão: a coordenação, docentes e secretárias, pelos ensinamentos e suporte.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela disponibilidade de bolsa durante o curso de mestrado.

Ao Laboratório de Anatomopatologia, da Universidade Estadual do Maranhão, pela infraestrutura, companhia, risadas no “lab”, pelo tempo e técnica disponibilizados aos sábados ou folgas durante as coletas, em especial a: Dr. Fábio Henrique Evangelista, Dra. Mylena Torres, Dra. Tatiane Aranha, Dr. Fernando Almeida, Dra. Nathália Martins, Ma. Adriana Vivian, Ma. Allana Barros, Ma. Renata Mondego, Me. Higor Silva, Ana Eliza Oliveira, Breno Glaessner Souza, Isabel Oliveira, Sarah Ingrid Santos, Anderson Cássio Campelo, Luís Gustavo Matias, Eslen Quézia, Thais Rafisa, Scarleth Kévia, João Victor Aguiar e Fernanda Farias.

A Dra. Zulmira Batista pelos ensinamentos e por ter nos ajudado a idealizar a execução do projeto com as associações comunitárias.

Ao Laboratório de Imunodiagnóstico da Universidade Estadual do Maranhão, em especial ao Prof. Dr. Ferdinan Almeida Melo e aos mestres Carla Janaína Rebouças, Ana Karoline Simas e Christian Lima, pela infraestrutura e auxílio na realização dos ELISAS.

Ao Adamo Sousa, criador das artes de divulgação da campanha de “Diagnóstico do Calazar” nos bairros, como cartazes e faixas de áudio. Sem sua ajuda teria sido muito mais difícil atingir o “n” amostral.

Às Associações Comunitárias e Escolas, pela disponibilidade de seu espaço físico para a realização das campanhas de “Diagnóstico do Calazar”, para a coleta das amostras biológicas e divulgação de informações sobre a doença, em especial a: Associação dos Moradores da 201 (Cidade Operária), Associação de Moradores da Cidade Olímpica, União dos Moradores do Jardim América, Associação dos Moradores do São Cristovão e a Unidade de Ensino Básico Antônio Vieira.

Aos proprietários dos cães deste estudo, que voluntariamente autorizaram a participação de seus animais neste estudo.

A Secretaria Municipal de Saúde de São Luís - Maranhão, em particular a Superintendência de Vigilância Epidemiológica e Sanitária e a Sheilla Nascimento que disponibilizaram os dados de notificação de leishmaniose visceral humana para análise.

Às professoras doutoras Lucilene Amorim (UFMA), Joicy Cortez de Sá (CEUMA) e Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento (UFMA) pelas valiosas contribuições na qualificação.

Ao Prof. Dr. Nêuton Silva-Souza, da Universidade Estadual do Maranhão, meu “pai científico”, que me ensinou “pesquisa não tira férias”, pelas oportunidades, e por ter me guiado até a Prof. Dra. Ana Lúcia para que eu pudesse tentar a seleção de mestrado.

Aos meus amigos da graduação, Fernanda Carvalho, Roberta Sabrine, Guilherme Miranda, Lorrane Gabrielle, Gustavo Rodrigues e Thiago Vinicius, que sempre torceram por mim.

A Turma PPGCS 2016/2018 pela companhia, pizzas, risadas, caronas e medo dos prazos durante esses dois anos, em especial a Uiara Regina, Carol Brito, Itaynara Dutra, Franciso Junior, Carla Cunha e Rosana Martins.

Aos meus amigos, Marcelo Maciel, Thais Ramayra e Ana Caroline Bógea por todo apoio.

Enfim, obrigada a todos que me apoiaram nesta jornada!

## SUMÁRIO

	<b>LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS</b>	<b>x</b>
	<b>LISTA DE TABELAS</b>	<b>xi</b>
	<b>LISTA DE FIGURAS</b>	<b>xii</b>
	<b>RESUMO</b>	<b>xiii</b>
	<b>ABSTRACT</b>	<b>xiv</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b>	<b>17</b>
<b>2.1</b>	<b>Leishmaniose visceral</b>	<b>17</b>
<b>2.2</b>	<b>Distribuição da leishmaniose visceral</b>	<b>21</b>
<b>2.3</b>	<b>Centros de Controle de Zoonoses</b>	<b>25</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>28</b>
<b>3.1</b>	<b>Geral</b>	<b>28</b>
<b>3.2</b>	<b>Específicos</b>	<b>28</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>29</b>
<b>4.1</b>	<b>Área de estudo</b>	<b>29</b>
<b>4.2</b>	<b>Inquérito amostral canino</b>	<b>30</b>
4.2.1	Amostragem	30
4.2.1	Avaliação clínica dos cães	31
4.2.2	Coleta de sangue	31
4.2.3	Análise sorológica	32
<b>4.3</b>	<b>Análise dos casos de leishmaniose visceral humana</b>	<b>33</b>
<b>4.4</b>	<b>Análise estatística</b>	<b>34</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>35</b>
<b>5.1</b>	<b>Inquérito amostral canino</b>	<b>35</b>
<b>5.2</b>	<b>Análise dos casos notificados de leishmaniose visceral em humanos em São Luís, Maranhão</b>	<b>42</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	<b>47</b>
<b>6.1</b>	<b>Inquérito amostral canino</b>	<b>47</b>
<b>6.2</b>	<b>Análise dos casos notificados de leishmaniose visceral em humanos em São Luís, Maranhão</b>	<b>52</b>

<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>56</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>57</b>
	<b>ANEXO A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO</b>	<b>70</b>
	<b>ANEXO B – FICHA CLÍNICA</b>	<b>71</b>
	<b>ANEXO C – DECLARAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA E EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL.</b>	<b>72</b>
	<b>ANEXO D – PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA E EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL</b>	<b>73</b>
	<b>ANEXO E - PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP</b>	<b>74</b>
	<b>ANEXO F – COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO ARTIGO</b>	<b>82</b>

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CCZ	Centro de Controle de Zoonoses
D.O	Densidade Óptica
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay (Ensaio de Imunoabsorção Enzimática)
FUNASA	Fundação Nacional de Saúde
G/ RCF	Força gravitacional ou Força Centrífuga Relativa
LVC	Leishmaniose Visceral Canina
LVH	Leishmaniose Visceral Humana
RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
PBST	Phosphate Buffered Saline with Tween
PCR	Reação em Cadeira Polimerase
SEMUS	Secretaria Municipal de Saúde
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SRD	Sem Raça Definida
T.A	Temperatura Ambiente
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UCZs	Unidades de Controle de Zoonoses e Fatores Biológicos de Risco
UVZ	Unidade de Vigilância em Zoonoses

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1.</b>	Classificação das Unidades de Controle de Zoonoses (UCZs) quanto à quantidade de habitantes por município.	26
<b>Tabela 2.</b>	Frequências absolutas e relativas dos cães soropositivos e soronegativos para leishmaniose visceral (LV) em bairros do Distrito Tirirical, São Luís/MA (2016/2017).	35
<b>Tabela 3.</b>	Frequência de cães positivos para leishmaniose visceral (LV) no Distrito Tirirical, São Luís, MA, classificados quanto ao sexo, no período de 2016 a 2017.	35
<b>Tabela 4.</b>	Frequência de cães amostrados no Distrito Tirirical de São Luís, MA, por raça e soropositividade para leishmaniose visceral (LV), entre 2016 a 2017	36
<b>Tabela 5.</b>	Relação entre a proximidade da moradia dos cães com áreas de mata e positividade para leishmaniose visceral (LV) em bairros do Distrito Tirirical, São Luís, MA, entre 2016 a 2017.	38
<b>Tabela 6.</b>	Distribuição de cães positivos para leishmaniose visceral (LV), em bairros do Distrito Tirirical em São Luís – MA, quanto à manifestação clínica, entre os anos 2016 a 2017.	38
<b>Tabela 7.</b>	Frequência dos sinais clínicos encontrados na avaliação dos cães submetidos ao inquérito amostral de leishmaniose visceral, realizado no Distrito Tirirical, São Luís, MA (2016/2017).	41
<b>Tabela 8.</b>	Registro de casos de LVH por ano, associados aos distritos sanitários de São Luís, MA.	45
<b>Tabela 9.</b>	Frequência de casos de leishmaniose visceral humana por ano da notificação nos bairros do distrito Tirirical.	46

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Distribuição dos novos casos de leishmaniose visceral (LV) reportados a Organização Mundial da Saúde em 2015. 17
- Figura 2.** Distribuição de casos de leishmaniose visceral por UF de infecção, Brasil, 2015. 23
- Figura 3.** Distribuição dos distritos sanitários do município de São Luís, Maranhão, Brasil: (1) Centro, (2) Itaqui-Bacanga, (3) Coroadinho, (4) Cohab, (5) Bequimão, (6) Tirirical e (7) Vila Esperança. 29
- Figura 4.** Representação esquemática da distribuição das amostras testes e controles na placa de ELISA, sendo a cor verde representativa do branco (PBST), a cor azul representando os controles não reagentes e a cor vermelho correspondendo ao controle reagente. 32
- Figura 5.** Distribuição dos cães positivos e negativos para leishmaniose visceral (LV), por idade no inquérito amostral realizado no Distrito Tirirical, São Luís – MA (2016/2017). (A) Distribuição dos cães por idade na categoria jovem. (B) Distribuição dos cães adultos e (C) Distribuição dos cães idosos. 37
- Figura 6.** Sinais clínicos em cães positivos para leishmaniose visceral, no Distrito Tirirical de São Luís, MA. A. Onicogribose. B. Área alopecica e com lesões de pele e (C) Blefarite e presença de secreção mucopurulenta. 39
- Figura 7.** Distribuição do número de casos e incidência da leishmaniose visceral (LV) durante 10 anos em São Luís, MA. Incidência por 100.000 habitantes. 42
- Figura 8.** Distribuição quanto ao sexo dos pacientes com LV em São Luís - MA, entre 2007 a 2016. 43
- Figura 9.** Distribuição da faixa etária de indivíduos com leishmaniose visceral em São Luís, MA, de 2007 a 2016. 43
- Figura 10.** Evolução dos casos notificados de leishmaniose visceral humana em São Luís, MA, entre 2007 a 2016. 44
- Figura 11.** Distribuição dos casos notificados de leishmaniose visceral humana, entre os anos de 2006 a 2016, em São Luís, MA por distrito sanitário. 45

## RESUMO

A leishmaniose visceral (LV) é uma doença tropical, crônica e negligenciada, causada por protozoários do gênero *Leishmania*, que são transmitidos por flebotomíneos, podendo infectar cães, humanos, raposas e marsupiais. A LV é endêmica no Brasil, tendo a região Nordeste com a maior concentração de casos. Em São Luís, MA, esta doença é endêmica desde a década de 80, e mesmo com as ações de controle e prevenção, por meio do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ), a zoonose apresenta uma alta quantidade de casos caninos e humanos. Nos últimos anos, a periodicidade das atividades de controle e prevenção da doença foi mínima, o que instigou a realização desta pesquisa, que tem por objetivo avaliar os casos de leishmaniose visceral em humanos, notificados entre 2007 a 2016, e caninos, após a descontinuidade das ações e políticas públicas sob responsabilidade do CCZ, em São Luís, MA. A soroprevalência canina foi determinada por um inquérito amostral, realizado em bairros do Distrito Tirirical, no qual foram analisados o perfil clínico e a sorologia dos cães participantes. A avaliação dos casos notificados de LV humana foi realizada por meio dos dados fornecidos pela Secretária Municipal de Saúde (SEMUS) do município. O inquérito amostral analisou 190 cães domiciliados, ambos os gêneros, com e sem raça definida e idade a partir de seis meses. Nas análises clínicas, foram encontrados em todos os bairros animais com sinais clínicos sugestivos da infecção, como a caquexia, lesão de pele, aumento das unhas, linfadenomegalia e lesões oculares, por exemplo. A frequência de cães soropositivos para LV foi de 45,8%, correspondente a 87 animais destas localidades, dos quais 54% eram assintomáticos, com pouco ou nenhum sinal sugestivo da infecção. A análise dos casos humanos de LV, notificados entre os anos 2007 a 2016, demonstrou um total de 415 casos notificados a SEMUS. Destes 415 casos, 64,6% (268/415) foram notificados a partir de 2013, onde é possível observar o crescente aumento da incidência da zoonose, ano em que o Centro de Controle de Zoonose (CCZ) interrompeu suas atividades de controle e prevenção da doença. O Distrito Tirirical, local da realização do inquérito amostral canino, representa um local de alta concentração de casos humanos e de cães parasitados ao longo dos anos, o que é extremamente preocupante para a cidade de São Luís, uma vez que este distrito apresenta uma grande quantidade de cães positivos e assintomáticos, funcionando como reservatórios silenciosos e responsáveis pela manutenção do ciclo. Com estes dados, fica evidente que houve um aumento de casos humanos, possivelmente ratificado pela paralisação do CCZ e que também existe uma grande quantidade de cães portadores do parasito no Distrito analisado. Além disso, fica notória a necessidade de melhorias nas estratégias de controle e prevenção da doença para que possa ocorrer a redução dos casos de LV no município em estudo.

Palavras- chave: Endemia; Epidemiologia; *Leishmania*; Maranhão; Zoonoses.

## ABSTRACT

Visceral leishmaniasis (VL) is a chronic, neglected and tropical disease caused by protozoa of the genus *Leishmania*, which are transmitted by sand flies and can infect dogs, humans, foxes and marsupials. Visceral leishmaniasis is endemic in Brazil, which has the Northeast region with the highest concentration of cases. At São Luís, MA, this disease has been endemic since the 80s and even with the actions of control and prevention through the Zoonoses Control Center, the disease presents a high number of canine and humans cases. In the last years, the frequency of disease control and prevention activities was minimal, which instigated the realization of this research, whose aim is to evaluate cases of visceral leishmaniasis in humans, reported between 2007 to 2016, and canines, after a discontinuation of actions and public policies under the responsibility of CCZ in São Luís, MA. Canine seroprevalence was determined by a sample survey, held in neighborhoods of the District Tirirical, in which the clinical profile and the serology of the participating dogs were analyzed. The evaluation of the reported cases of human VL was performed through data provided by the Municipal Health Secretary (SEMUS) of the municipality. The sample survey analyzed 190 domiciled dogs, both genders, with and without defined breed and age from six months. In the clinical analyzes, animals with clinical signs suggestive of infection, such as cachexia, skin lesion, nail enlargement, lymphadenopathy and ocular lesions were found in all neighborhoods. The frequency of seropositive dogs for LV was 45,8%, corresponding to 87 animals from these localities, of which 54% were asymptomatic, with little or no suggestive signs of infection. The analysis of human cases of VL, reported between the years 2007 to 2016, showed a total of 415 cases reported to SEMUS. Of these 415 cases, 64.6% (268/415) were notified in 2013, where it is possible to observe the increasing incidence of zoonoses, in the year which the Zoonoses Control Center (CCZ) stopped its control activities and prevention of disease. The Tirirical District, the site of the canine sample survey, represents a site of high concentration of human cases and dogs parasitized over the years, which is extremely worrying for a city of São Luís, since this district presents a large number of positive and asymptomatic dogs, functioning as silent reservoirs and responsible for maintaining the cycle. With these data, it is evident that there was an increase in human cases, possibly ratified by CCZ stoppage and that there are also a large number of parasitized dogs in the analyzed District. In addition, the need for improvements in disease control and prevention strategies is evident so that the reduction of VL cases can occur in the municipality under study.

Key-words: Endemic; Epidemiology; *Leishmania*; Maranhão; Zoonosis.

## 1 INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral (LV) é uma doença infecciosa de caráter crônico, causada por protozoários do gênero *Leishmania* (NOGUEIRA et al., 2009). Corresponde a um dos principais problemas veterinários e de saúde pública devido a ampla distribuição geográfica, alta incidência e formas clínicas severas (SCHALLIG et al., 2002; MALMASI et al., 2014).

A LV é registrada em 98 países, sendo a Índia, Bangladesh, Sudão, Sudão do Sul, Brasil e Etiópia, os responsáveis por mais de 90% dos casos (ALVAR et al., 2012). Em nosso país, a LV encontra-se registrada em 77,8% do território brasileiro, tendo a região Nordeste os maiores índices da doença (ALVES; FAUSTINO, 2005; CAMARGO-NEVES, 2005, WERNECK, 2014).

Desde 1982, a doença tem sido registrada no Maranhão (SILVA et al., 1983; 1997; MENDES et al., 2002) e assim como no restante do país a transmissão do protozoário (*Leishmania infantum chagasi*) é ocasionada pela picada de flebotomíneos fêmeas da espécie *Lutzomyia longipalpis* (BRASIL, 2006).

Os cães domésticos são considerados os principais reservatórios deste protozoário e a principal fonte de infecção para o homem (MARCONDES; ROSSI, 2013). Segundo o Ministério da Saúde, os métodos de controle e prevenção da LV devem ser medidas que incidam sobre os vetores, como a utilização de inseticidas e mosquiteiros, e sobre os principais reservatórios, como o diagnóstico e tratamento precoce de humanos infectados, assim como o diagnóstico precoce também de cães positivos para posterior eutanásia dos mesmos, a fim de evitar que este seja fonte de infecção para outro hospedeiro mamífero (BRASIL, 2014).

A LV humana e canina tem sido um grande problema de saúde pública na Ilha de São Luís, sendo reportados casos nos quatro municípios (São José de Ribamar, Paço do Lumiar, São Luís e Raposa) pertencentes à mesma (DIAS et al., 2008; BARBOSA et al., 2010; COSTA-JÚNIOR et al., 2017). Em São Luís, a prevenção e controle dos principais reservatórios da LV eram realizados pelo órgão conhecido como Centro de Controle de Zoonoses, que mesmo com suas intervenções, como recolhimento de animais positivos e eutanásia dos mesmos, o município chegou a apresentar altas taxas de prevalências da doença (ABREU-SILVA et al., 2008; BARBOSA et al., 2010).

Depois de atuar por mais de 30 anos na cidade de São Luís, o CCZ teve suas atividades interrompidas para readequação infraestrutural em 2013. Após três anos de inatividade retornou “suas atividades” em novo local e sob renomeação (Unidade Vigilância em Zoonoses).

Devido aos crescentes relatos de casos da doença na cidade, por meio de profissionais veterinários, jornais e até mesmo a comunidade, foi levantada a hipótese do trabalho: se com a interrupção ou realização de mínimas atividades do CCZ propiciou ou culminou o aumento no número de casos de LV na cidade.

Sendo assim, o objetivo desta pesquisa foi realizar um inquérito sorológico amostral canino e analisar as notificações de casos humanos de LV, de 2007 até os dados mais atuais disponibilizados (2016), na tentativa de buscar relação entre a interrupção do serviço à população.

Contudo devido à ausência dos dados caninos no CCZ, no mesmo período de análise dos casos humanos, optou-se pela realização do inquérito sorológico dos cães, que além de sua função de controle deste reservatório em extensas áreas, tem papel fundamental na detecção de focos silenciosos da doença e na delimitação de regiões ou setores de maior prevalência, onde as execuções de medidas de controle se fazem mais necessárias.

Além disso, o presente trabalho, por possuir em sua metodologia uma etapa de conscientização da população através de palestras educativas junto às associações de moradores, previamente a realização das coletas de amostras sanguíneas caninas, o qual era intitulada “Diagnóstico do Calazar”, sensibiliza a população sobre os perigos da doença, além de serem repassadas passadas informações sobre a epidemiologia, tais como: transmissão, tratamentos, vacinas, medidas profiláticas para os cães e ambiente (residências).

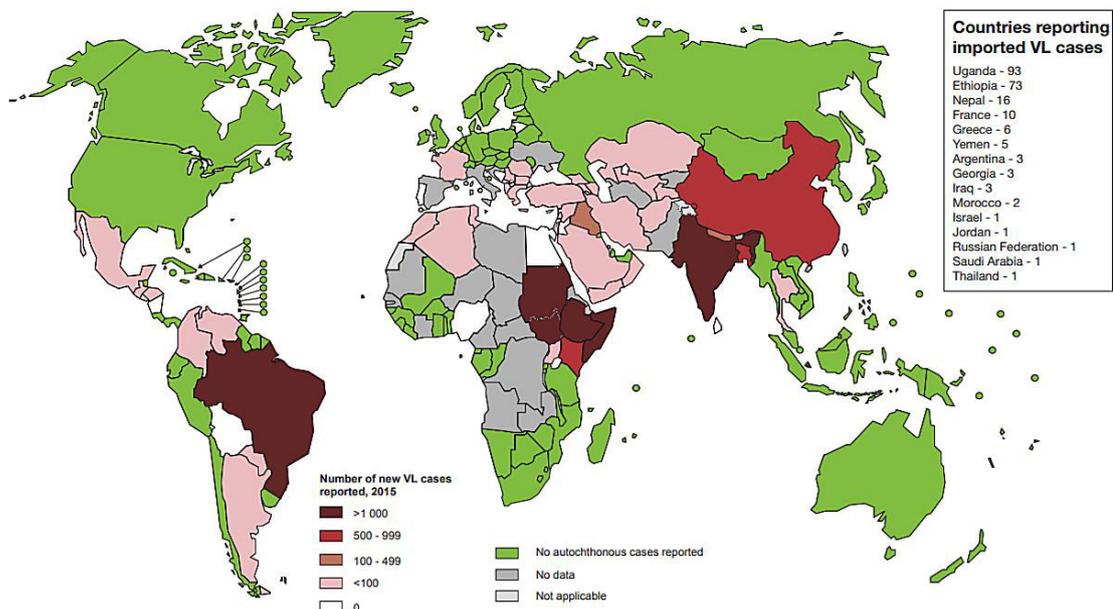
Ressalta-se, portanto, que esta análise é de grande importância para a Saúde Pública, e que os resultados obtidos neste estudo poderão subsidiar a melhoria nos serviços de controle da zoonose, instigando o amplo e adequado funcionamento dos órgãos competentes, demonstrando pelo inquérito sorológico canino e pela análise dos dados humanos, quais locais necessitam de intervenção imediata e a mudança no padrão de distribuição da mesma.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Leishmaniose visceral

A leishmaniose visceral (LV) é uma das doenças tropicais negligenciadas, causadas por protozoários do gênero *Leishmania*. A LV possui ampla distribuição mundial, sendo registrada em 98 países (ALVAR et al., 2012) (Figura 1), na qual estima-se em 200 a 400 mil casos novos a cada ano no mundo, com cerca de 10% deles evoluindo para óbito (WERNECK, 2016). Os agentes etiológicos da LV apresentam-se sob duas principais morfologias: amastigota e promastigota. A forma amastigota é aflagelada e é encontrada, principalmente no interior de células do sistema mononuclear fagocitário e das células residentes na pele do hospedeiro vertebrado. A forma promastigota possui flagelo e é encontrada no tubo digestório do vetor (BOUAZIZI-BEN MESSAOUD et al., 2017).

Status of endemicity of visceral leishmaniasis worldwide, 2015



**Figura 1.** Distribuição dos novos casos de leishmaniose visceral (LV) reportados a Organização Mundial da Saúde em 2015.

Fonte: Organização Mundial de Saúde (2015).

A transmissão natural pode ser zoonótica ou antroponótica, sendo geralmente ocasionada pela picada de flebotomíneos fêmeas, do gênero *Lutzomyia* (Ordem Diptera, Família Psychodidae, subfamília Phlebotominae), infectadas com o protozoário (SANTA

ROSA; OLIVEIRA, 1997; BELO et al., 2013). Embora outras formas de transmissão como venérea, placentária e por transfusão sanguínea já tenham sido relatadas, estes mecanismos não são considerados como importantes no ponto de vista epidemiológico (BOGGIATTO et al., 2011; NAUCKE; LORENTZ, 2012; MARCONDES; ROSSI, 2013).

No Brasil, *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* é o principal agente etiológico da LV, sendo transmitido por flebotomíneos das espécies *Lutzomyia longipalpis* e *Lu. cruzi*, que são conhecidos popularmente por “mosquito palha”, “asa dura”, “asa branca”, “cangalhinha”, “birigui” ou “tatuquiras” (COSTA et al., 2015; RANGEL; LAINSON, 2003).

A espécie *L. longipalpis* é adaptada ao ambiente peridomiciliar, alimentando-se em uma grande variedade de hospedeiros vertebrados, entre aves, homem e outros animais silvestres ou domésticos (MONTEIRO et al., 2005), devido a este hábito tornou-se o principal vetor da doença no país, sendo sua presença considerada um elemento essencial no ciclo de transmissão da doença (LAINSON; RANGEL, 2005). Estudos relatam a infecção em *Lu. Cruzi* por *Leishmania*, entretanto esta espécie de flebotomíneo possui importância epidemiológica restrita, funcionando como um vetor alternativo no Estado do Mato Grosso do Sul (SANTOS et al., 1998; MISSAWA et al., 2011).

O ciclo da doença inicia quando as fêmeas durante hematofagia em mamíferos infectados ingerem, principalmente, macrófagos parasitados por formas amastigotas da *Leishmania* (BRASIL, 2014). No trato digestivo do vetor, os macrófagos rompem e liberam as formas amastigotas, que se reproduzem por divisão binária e diferenciam-se rapidamente em formas promastigotas. Estas formas promastigotas transformam-se em paramastigotas, as quais colonizam o esôfago e faringe do vetor, onde permanecem aderidas ao epitélio pelo flagelo, quando se diferenciam para as formas infectantes para o reservatório vertebrado – promastigotas metacíclicas. O ciclo da *Leishmania* no vetor se completa em torno de 72 horas (BRASIL, 2006). Após este período, as fêmeas infectadas ao realizarem um novo repasto sanguíneo em um hospedeiro vertebrado inoculam por meio da picada a forma promastigota metacíclica juntamente com a saliva, as quais são fagocitadas pelos macrófagos da derme (MONTALVO et al., 2012).

No interior dos macrófagos, as promastigotas transformam-se em amastigotas e entram em processo de multiplicação por divisão binária provocando a lise da célula quando estas estão repletas de parasitos (BRASIL, 2006). As amastigotas livres são fagocitadas por

novos macrófagos em um processo contínuo, ocorrendo então à disseminação hematogênica e linfática para locais ricos em células do sistema mononuclear fagocitário, como linfonodos, fígado, baço e medula óssea (RIBEIRO, 1997; BRASIL, 2006; FRASER, 2008).

A LV apresenta dois ciclos epidemiológicos: o ciclo silvestre e urbano. O ciclo silvestre apresenta como principais reservatórios do protozoário as raposas (*Lycalopex vetulus* Lund, 1842 e *Cerdocyon thous* Linnaeus, 1766) e marsupiais (*Didelphis albiventris* Lund, 1840 e *D. marsupialis* Linnaeus, 1758) (LAINSON, 2010; ROQUE; JANSEN, 2014). No ciclo urbano, os cães domésticos (*Canis familiares* Linnaeus, 1758) são considerados os principais reservatórios do protozoário e a principal fonte de infecção para o homem (MARCONDES; ROSSI, 2013). Fatores como grau superior de parasitismo na pele, comparado aos humanos, favorecendo a infecção dos vetores, a alta taxa de reprodução dos cães, adicionados ao crescente número de animais em estado de abandono, os tornam os principais reservatórios da doença no ciclo urbano (SCHIMMING et al., 2012; GALVÃO, 2016).

A infecção pela *L.(L.) infantum chagasi* pode causar manifestações clínicas de intensidade variável, desde discretas a moderadas e graves, que se não tratadas podem levar tanto o cão como o humano ao óbito. As manifestações clínicas da doença são variadas e nos cães incluem sinais como emagrecimento, onicogribose, hepatomegalia, esplenomegalia, linfadenopatia, dermatite granulomatosa ou ulcerativa, hiperkeratose, conjuntivite, blefarite e alopecia (CIARAMELLA; CORONA, 2003; PALTRINIERI et al., 2010). Porém, alguns animais podem permanecer clinicamente saudáveis (assintomáticos) ou exibir os sinais característicos da infecção apenas nos estágios finais da doença (MARCONDES; ROSSI, 2013; BRASIL, 2014).

Em humanos, fatores como idade, estado nutricional e características imunogenéticas podem determinar a gravidade das manifestações clínicas conjuntamente com o tempo de evolução da doença. No período inicial da infecção em humanos ocorrem febre, hepatoesplenomegalia discreta e palidez cutâneo-mucosa, podendo estar presentes tosse e diarreia também. Caso não identificada e tratada de forma correta a doença no período inicial, o paciente evolui para o período caracterizado pela hepatoesplenomegalia volumosa, com persistência da febre, piora da palidez cutâneo-mucosa e emagrecimento progressivo (BARBOSA; COSTA, 2013; BRASIL, 2015).

Para confirmação do diagnóstico clínico em humanos e cães é necessária à realização de testes laboratoriais. Geralmente, o diagnóstico laboratorial é realizado por meio de métodos parasitológicos e/ou sorológicos. As técnicas sorológicas são consideradas ferramentas importantes e utilizadas comumente para o diagnóstico da doença (SILVEIRA NETO, 2010). As técnicas mais utilizadas são o ensaio imunoenzimático (ELISA) e a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) (BRASIL, 2006, GARCIA; MARCONDES, 2007; SILVA et al., 2011).

Além de métodos sorológicos e parasitológicos, a Intradermorreação de Montenegro (IDRM) também pode ser realizada em humanos para confirmação do diagnóstico (BRASIL, 2014). Em amostras caninas o diagnóstico pode ser também realizado por meio do teste DPP®, que possui fácil execução e rapidez no resultado (DOURADO et al., 2007), pela imuno-histoquímica, isolamento do parasita em cultura e reação em cadeia polimerase (PCR) (FARIA; ANDRADE, 2012; GALVÃO, 2016).

O diagnóstico parasitológico possui uma especificidade de 100%, pois consiste na observação direta das formas amastigotas, livres ou no interior dos macrófagos, em esfregaços de punções aspirativas do linfonodo, medula óssea, baço e/ou fígado, que são os órgãos mais parasitados (SONODA, 2007; SAKKAS et al., 2016). Embora o diagnóstico parasitológico apresente máxima especificidade, este tipo de exame é inaplicável em programas de saúde pública voltados para os cães, já que uma grande quantidade de animais devam ser avaliados em curto espaço de tempo e o exame ser considerado invasivo, significando ocorrência de risco para o animais (BRASIL, 2014).

Dentre os testes disponíveis para o diagnóstico da LVC, o Ministério da Saúde recomenda o Teste Imunocromatográfico DPP® (Dual Path Plataform, Biomanguinhos), como teste de triagem, e o ELISA® – (Kit EIE Leishmaniose Visceral Canina - Biomanguinhos), como teste confirmatório, no lugar da reação de imunofluorescência indireta - Biomanguinhos (RIFI®) (BRASIL, 2011).

No entanto, mesmo com variedade de testes laboratoriais, o diagnóstico da LV em cães apresenta-se como problema para os serviços de saúde, devido à variedade dos sinais clínicos que podem ser observados em outras doenças infecciosas e a inexistência de um teste de diagnóstico 100% específico e sensível. Falhas nesses resultados podem causar a eliminação animais não infectados, e, por outro lado, não detectar casos positivos, favorecendo a disseminação da doença (SILVA et al., 2016).

Quanto à prevenção da doença por meio de vacinação não existem produtos para a população humana até o momento. Para os cães, existem dois produtos (Leishmune® e Leish-Tec®), embora apenas a Leish-Tec® seja comercializada na rede particular, pois a Leishmune® foi removida do mercado devido ao não cumprimento de todos os requisitos expressos na Instrução Normativa (IN) Intermistrial n°31/2007 (BRASIL, 2014).

A utilização da vacina como medida preventiva para os cães desperta reações diferentes, quanto a sua eficácia no controle epidemiológico, pois a eficácia afirmada pelo fabricante é proveniente de estudos realizados em determinadas regiões, ou seja, contextos diferentes. Além disso, a vacina é de alto custo, não possui cobertura total (50-60% de eficácia), necessita ser aplicada todos os anos em áreas endêmicas, e seu uso deve ser associado à coleira repelente para diminuir a possibilidade de contato (PINTO; VARGAS, 2017).

O Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (PVCLV) do Ministério da Saúde prevê ações para a redução da transmissão e da morbimortalidade. Para diminuir a força de transmissão recomenda-se o controle vetorial e inquéritos soropidemiológicos caninos com posterior eutanásia dos cães soropositivos, além das ações de educação em saúde (GONTIJO; MELO, 2004; BRASIL, 2006; WERNECK, 2016).

As ações para a redução da letalidade, envolvem o aperfeiçoamento dos procedimentos para o diagnóstico precoce e a pronta disponibilidade de medicamentos para o tratamento humano. Apesar dos esforços e dos recursos empenhados para o pleno funcionamento do PVCLV, é notório que as ações direcionadas para a redução da transmissão não vêm surtindo o efeito desejado (CONITEC, 2016; WERNECK, 2016).

## **2.2 Distribuição da Leishmaniose visceral**

A leishmaniose visceral (LV) ou calazar, como é popularmente conhecida, é uma doença crônica de notificação compulsória e está entre as mais importantes endemias mundiais. Segundo a Organização Mundial de Saúde, em 2015 foram relatados, aproximadamente, 25.000 novos casos da infecção. No entanto, este valor representa apenas os casos registrados nos sistemas nacionais de vigilância e relatados à OMS (WHO, 2017).

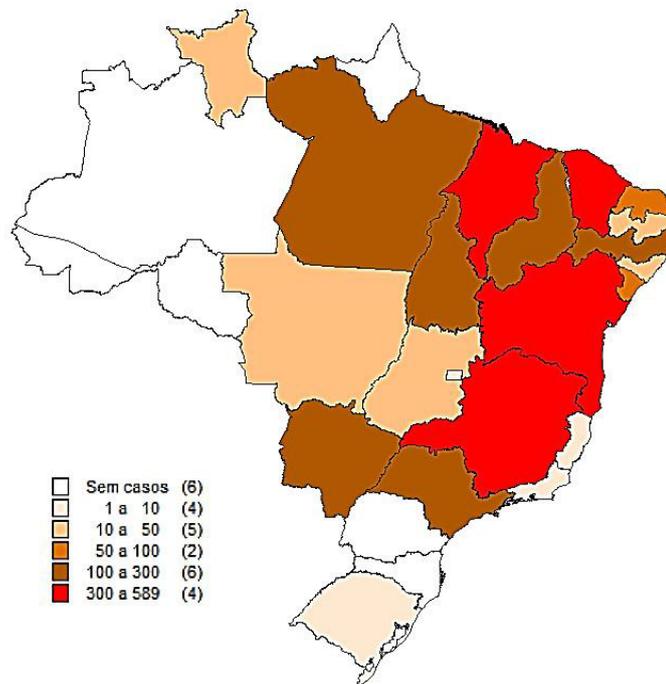
A LV é registrada em 98 países, distribuídos na Ásia, Europa, Oriente Médio, África e Américas, onde os seis países mais afetados Índia, Bangladesh, Sudão, Sudão do Sul, Brasil e Etiópia, representando mais de 90% do total de casos no mundo (ALVAR et al., 2012; OPAS, 2015; WERNECK, 2016). Na América Latina, a LV está presente em doze dos vinte países, e mesmo com a subnotificação de grande parte dos casos, o Brasil detém a maior concentração dos casos (96%), seguidos do Paraguai (3,2%) e Colômbia (0,4%) (GONTIJO; MELO, 2004; BRASIL, 2006; BERN et al., 2008; BELO, 2013; OPAS, 2015).

Inicialmente, a LV foi caracterizada como uma doença endêmica de zonas rurais e com ocorrência focal, principalmente na Região Nordeste do Brasil (DANTAS-TORRES; BRANDÃO-FILHO, 2006; WERNECK, 2008; BRASIL, 2013). Porém, a partir da década de 1980, através de estudos de casos humanos e caninos observou-se a expansão e urbanização da LV em várias cidades brasileiras de médio e grande porte (HARHAY et al., 2011; WERNECK, 2016).

O padrão de transmissão da doença sofreu modificações devido às mudanças decorrentes das transformações ambientais, ao processo de urbanização, aos intensos fluxos migratórios e esvaziamento rural, promovendo a distribuição da doença por todas as regiões do país, incluindo regiões não endêmicas (GONTIJO; MELO, 2004; WERNECK, 2008, 2010; BRASIL, 2013).

No Brasil, o primeiro surto urbano de LV foi relatado em Teresina (PI), com 900 casos entre os anos de 1981 a 1985 (COSTA et al., 1990). Alguns anos depois deste primeiro registro em zona urbana, a zoonose expandiu e intensificou-se a outras cidades de diferentes regiões do país, como São Luís, Natal, Aracaju, Boa Vista, Santarém, Belo Horizonte, Montes Claros, Cuiabá e Campo Grande (BRASIL, 2001; WERNECK, 2014).

A LV está distribuída em 21 das 27 unidades federativas do Brasil (Figura 2), com cerca de 3.500 casos anuais de leishmaniose visceral humana (LVH) e alta letalidade (MADALOSSO, 2012; OLIVEIRA et al., 2010; BRASIL, 2013).



**Figura 2.** Distribuição de casos de leishmaniose visceral por UF de infecção, Brasil, 2015.  
Fonte: SVS/MS (2015)

Entre as 21 unidades federativas com o registro da doença (BRASIL, 2014; WERNECK, 2014), a região Nordeste destaca-se por seus estados apresentarem as maiores prevalências de leishmaniose visceral canina (LVC) e humana (LVH), sendo considerada endêmica com episódios de epidemia, principalmente na zona urbana (ALVES; FAUSTINO, 2005; BAVIA et al., 2005; CAMARGO-NEVES, 2005; BATISTA et al., 2014). Embora a maior prevalência de LV humana ocorra nesta região, nos últimos 30 anos, segundo Harhay et al. (2011) a doença se espalhou para novas áreas endêmicas em todas as regiões do Brasil.

Entre 2010 a 2014 foram registrados cerca de 17 mil novos casos de LV e mais de 1.100 óbitos, com autoctonia em 1/4 dos municípios brasileiros de 21 Unidades da Federação (WERNECK, 2016). Apenas em 2014 foram registrados no SINAN 3.453 novos casos de LVH, representando um coeficiente de incidência de 1,7 casos por 100 mil habitantes, distribuídos em 17 unidades federativas (BRASIL, 2014). Embora em 2015 tenha ocorrido um pequeno decréscimo no total de novos casos notificados da doença (3.289), com uma incidência de 1,6 casos/100.000 habitantes, estes novos casos estavam distribuídos em 22 unidades federativas, abrangendo as cinco regiões brasileiras, demonstrando a expansão do problema (BRASIL, 2015).

Em 2016, a região Nordeste concentrou 54,91% dos casos, enquanto a região Sul não apresentou casos da doença (BRASIL, 2016). De 1990 até 2015, o Nordeste apresentou os maiores coeficientes de incidência entre as regiões brasileiras, com incidência mínima e máxima de 2,4 até 7,8, respectivamente (BRASIL, 2015).

De acordo com os dados de 2015 do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), dos 3.289 casos notificados de LVH, destes 1.806 eram pertencentes ao Nordeste, com destaque para os estados do Maranhão (539), Ceará (419), Bahia (320) e Piauí (213) (Figura 3) (BRASIL, 2015).

Entre os nove estados pertencentes à região Nordeste, chama-se a atenção para o Maranhão que apresentou 14,54% dos 42.778 casos humanos registrados no país durante o levantamento epidemiológico brasileiro da LV realizado entre 2001 a 2012 (SILVA et al., 2008; COUTINHO et al., 2012). Quanto aos dados caninos, um estudo transversal realizado em cinco municípios do Maranhão, com diferentes ecossistemas, sendo eles Caxias, São Bento, Cururupu, Açailândia, São Domingos e Barreirinhas, demonstrou a soropositividade para *L. infantum chagasi* de 59,2% em um total de 960 cães (COSTA et al., 2015).

No estado do Maranhão, o estabelecimento da LV como epidemia ocorreu na cidade de São Luís em 1982, registrando 32 casos da doença em dois bairros do Distrito Tirirical (COSTA et al, 1995; NASCIMENTO et al., 1991, 1992; SILVA et al., 2008). Os casos registrados eram procedentes de bairros periféricos com migrantes, pois neste período ocorreu um intenso fluxo migratório com a instalação do Complexo Industrial do Maranhão, os quais eram instalados em áreas em condições inadequadas de habitação e saneamento (MENDES et al., 2002; SILVA et al., 2008).

Em 1984, ocorreu o pico da epidemia que atingiu um grande número de crianças em São Luís. Em 1987, houve um decréscimo dos casos, porém no ano seguinte ocorreu à ascensão de casos e com expansão para outros municípios da Ilha de São Luís, como São José de Ribamar e Paço do Lumiar (COSTA et al., 1995; NASCIMENTO et al., 1996). Desde o período de estabelecimento da LV na cidade, os coeficientes de incidência da doença sempre foram preocupantes. Em 1999, ano de um dos picos epidêmicos da doença na cidade, o coeficiente de incidência alcançou 15,8 casos por 100.000 habitantes, demonstrando-se um como um coeficiente alarmante (BARBOSA, 2011).

Silva et al.(2008), em estudo transversal entre os anos de 2004 a 2006, realizado na Ilha de São Luís, que é constituída por quatro cidades, analisaram 299 casos autóctones de

leishmaniose visceral humana, onde São Luís deteve grande parte dos 299 casos, correspondendo a 151 registros da doença. Os outros três municípios pertencentes a Ilha de São Luís possuíam um total de 148 casos de LV: São José de Ribamar (n= 68), Paço do Lumiar (n= 44) e Raposa (n= 36).

A partir de dados obtidos por levantamentos epidemiológicos de órgãos de saúde ou pesquisas científicas fica evidente que não só a capital (São Luís) (ABREU –SILVA et al., 2008; BARBOSA et al., 2010; COSTA et al., 2015), possuem uma grande quantidade de cães e humanos infectados pela *Leishmania* e sem nenhuma medida eficiente para o controle da doença e diminuição considerável dos números de casos tanto humanos quanto caninos, apresentando-se com um local endêmico para a doença.

### **2.3 Centros de Controle de Zoonoses**

As Unidades de Controle de Zoonoses e Fatores Biológicos de Risco (UCZs) são estabelecimentos onde se desenvolvem as atividades de vigilância ambiental e o controle de zoonoses e doenças transmitidas por vetores (BRASIL, 2003).

O controle de zoonoses está inserido no contexto da Saúde Pública e requer em suas diversidades de ações desenvolvidas a atuação de uma equipe multidisciplinar, por envolver temas das áreas de Medicina Humana e Veterinária, Biologia, Estatística, Educação, Informação, Comunicação e Assistência Social, além de dispor de legislação específica, recursos financeiros, físicos e materiais (REICHMANN, 2000). Segundo Brasil (2003), o controle das zoonoses é realizado pelo manejo das populações animais classificadas em: vetores: *Aedes* spp., *Culex* spp., flebótomos e simulídeos; reservatórios e hospedeiros: cães, gatos, bovinos, equídeos, suínos, ovinos e caprinos; animais sinantrópicos: roedores, baratas, pulgas, pombos e morcegos e; animais peçonhentos: escorpiões e aranhas.

De acordo com o “Guia de Projetos Físicos de Unidades de Controle de Zoonoses e Fatores Biológicos de Risco (UCZs), publicado pela Fundação Nacional de Saúde (FUNASA), por meio da Portaria 52/2002, reeditada em 2003 e 2007, as UCZs são classificadas em quatro tipos, de acordo com a quantidade de habitantes residentes no município de instalação da unidade (Tabela 1) (BRASIL, 2003; MORKAWA et al., 2016).

**Tabela 1.** Classificação das Unidades de Controle de Zoonoses (UCZs) quanto à quantidade de habitantes por município.

<b>Unidades de Controle de Zoonoses e Fatores Biológicos De Risco</b>	
<b>Tipo</b>	<b>Número de habitantes</b>
CCZ-1	População acima de 500.000 habitantes
CCZ-2	População de 100.000 a 500.000 habitantes.
CCZ-3	População de 50.000 a 100.000 habitantes.
CCZ-4	População de 15.000 a 50.000 habitantes.
Canil Municipal	População de até 15.000 habitantes.

Fonte: BRASIL (2003)

Os Centros de Controle de Zoonoses (CCZ) são instituições municipais, com estrutura física específica e personalidade jurídica legalmente estabelecida, geralmente vinculada ao órgão de saúde local, como as Secretárias, Departamentos, Coordenadorias ou Divisões, com competência e atribuição para desenvolver os serviços elencados nos programas de controle de zoonoses, de doenças transmitidas por vetores e de agravos por animais peçonhentos (REICHMANN, 2000).

Os serviços do CCZ têm por objetivo o controle de doenças comprovadamente registradas em uma cidade para o controle de agravos que possam ser vítimas os seres humanos ou para preservar as condições de controle estabelecidas através de seus programas de trabalho (REICHMANN, 2000). Suas atribuições incluem o controle da população animal, controle de vetores, entomologia, diagnóstico laboratorial de zoonoses e apoio aos municípios de menor porte. O Canil Municipal é responsável pelo desenvolvimento de atividades de apreensão de cães e gatos com o objetivo de manejo e controle destas populações animais enquanto fatores de risco de transmissão de doenças (BRASIL, 2003).

Segundo Morkawa et al. (2016), os CCZs possuem imagem de órgãos de recolhimento e sacrificio de animais, diante a população, devido ao seu histórico, porém suas atribuições mudaram com o passar dos anos. Desde 2014, de acordo com a Portaria MS 758/2014, esses órgãos passaram a ser denominados de Unidades de Vigilância em Zoonoses (UVZs), com o objetivo de ser um centro de inteligência em zoonoses e articulador de ações intersetoriais e não apenas um órgão operacional e de controle.

Na cidade de São Luís, o CCZ foi implantado em um prédio da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) em 1988, e executava as funções pré-estabelecidas de um CCZ1, como

controle e recolhimento de animais infectados e campanhas anuais de vacinação contra a raiva em cães e gatos. Embora o CCZ de São Luís realizasse as ações de medidas de controle da LV preconizadas pelo Ministério da Saúde, que fossem cabíveis financeiramente e estruturalmente para o mesmo, a prevalência canina da doença no último levantamento epidemiológico foi de 67% (67/100) cães infectados com *Leishmania* sp. em apenas uma região da cidade (BARBOSA, 2010).

Como mencionado, o CCZ não possuía terreno próprio, sendo suas instalações encontradas no interior da UEMA. Em 2013, essas instalações foram interditadas judicialmente pela falta de condições estruturais para o atendimento aos animais, e antes que a reforma e ampliação dos serviços fossem realizadas pela Prefeitura, a UEMA solicitou que o CCZ fosse instalado em outro local. Com esta solicitação houve paralisação das obras, aumentando o risco de proliferação da LV e outras zoonoses na cidade, uma vez que o controle e recolhimento dos animais ficaram suspensos.

Somente em 2016, o CCZ foi realocado para um novo prédio e renomeado para Unidade de Vigilância em Zoonoses (UVZ). Embora, em novo local e com limitações financeiras e estruturais, por exemplo, a ausência de um laboratório na própria unidade para a realização de outros testes (além do DPP) que não demanda estrutura física de laboratório, a nova unidade ainda não realiza suas atividades de forma regular para o controle da LV e outras zoonoses, como a raiva. Atualmente, a UVZ oferece alguns serviços de prevenção e controle da LV, como o diagnóstico de animais soropositivos por meio da busca passiva, ou seja, desde que o proprietário ou a população leve o animal até a unidade.

A LV continua a ser um dos maiores problemas de saúde pública na cidade de São Luís, sendo reportados casos caninos e humanos (BARBOSA et al., 2010; COSTA-JUNIOR et al., 2017). Em virtude da importância epidemiológica do cão como principal reservatório da LV e da situação endêmica da doença no Estado do Maranhão, o presente trabalho fez-se diante a necessidade de determinar uma estimativa mais recente da prevalência canina da doença na cidade de São Luís, além de analisar se houve um aumento de casos humanos após a interrupção das atividades do controle de zoonoses.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Geral**

Avaliar os casos de leishmaniose visceral em humanos, notificados entre 2007 a 2016, e caninos, após a descontinuidade das ações e políticas públicas sob responsabilidade do Centro de Controle de Zoonoses, em São Luís, MA.

#### **3.2 Específicos**

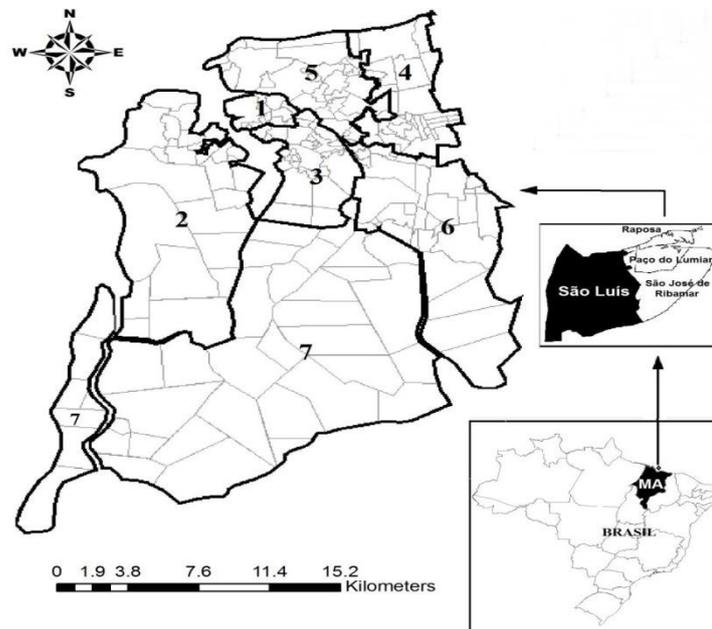
- Avaliar o perfil clínico de cães do distrito Tirirical, da cidade de São Luís, no período de 2016 a 2017;
- Determinar a distribuição dos casos da leishmaniose visceral canina no Distrito Tirirical;
- Comparar os números de casos notificados de leishmaniose visceral humana na cidade de São Luís, MA, no período de 2007 a 2016;
- Identificar as áreas de maior prevalência de leishmaniose visceral em São Luís.
- Propor medidas de controle da doença a partir dos resultados obtidos para o Distrito do Tirirical, São Luís – MA.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Área de estudo

A área de estudo da pesquisa foi o município de São Luís, localizado na região norte do Estado do Maranhão, com unidade territorial de 834,78 km<sup>2</sup> e uma população humana estimada em 2017 de 1.091.868 habitantes (IBGE, 2018). A estimativa da população canina residente no município ainda não possui dados concretos disponibilizados. No entanto, a Organização Mundial da Saúde e o Instituto Pasteur de São Paulo recomendam que em países emergentes a proporção média da população canina domiciliada varie de 1:10 a 1:6. Porém, este parâmetro é bastante variável de município para município, podendo atingir valores de até 1:1, podendo variar também na mesma cidade, de uma região para a outra ou até mesmo de um bairro para o outro (WHO, 1990; REICHMANN et al., 1999).

De acordo com critérios administrativos e de planejamento da Secretaria Municipal de Saúde (SEMUS), o município de São Luís é dividido em sete distritos sanitários: Centro; Itaqui-Bacanga; Coroadinho; Cohab; Bequimão; Tirirical e Vila Esperança (Figura 3).



**Figura 3.** Distribuição dos distritos sanitários do município de São Luís, Maranhão, Brasil: (1) Centro, (2) Itaqui-Bacanga, (3) Coroadinho, (4) Cohab, (5) Bequimão, (6) Tirirical e (7) Vila Esperança. Fonte: Adaptado de Barbosa (2011).

Para a realização do inquérito amostral canino selecionou-se o distrito do Tirirical, por ser uma área endêmica para a LV no município de São Luís, com elevado número de casos humanos e caninos relatados em estudos anteriores (ABREU-SILVA et al., 2008; BARBOSA et al., 2010). Dentre os bairros existentes no distrito selecionado, foram escolhidos quatro (Cidade Operária, Cidade Olímpica, Jardim América e São Cristovão), com características urbanas e que possuíssem centros ou associações comunitárias para a realização das ações informativas sobre a doença e de diagnóstico nos cães.

## 4.2 Inquérito amostral canino

### 4.2.1 Amostragem

A amostragem foi realizada conforme estabelecido pelo Centro Panamericano de Zoonosis (1979) para estudos de estimativa de prevalência. Para a definição do número de amostras coletadas foi utilizada a seguinte expressão:

$$N = \frac{P(100 - p)z^2}{\left(\frac{p.d}{100}\right)^2}$$

Sendo, “*n*” o número de amostras, “*p*” a prevalência esperada, “*z*” o grau de confiança e “*d*” a margem de erro. Considerando a prevalência esperada de 67%, correspondente ao resultado obtido por Barbosa et al. (2010), erro de 10% e grau de confiança de 95 % (*z* = 1,96), obteve-se um “*n*” de 189 amostras.

Como critérios de exclusão da pesquisa foram adotados: (i) cães que não residissem nos bairros selecionados; (ii) cães errantes; (iii) cães com menos de seis meses de idade e (iv) cães cujos os proprietários não assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). A idade dos cães foi estabelecida a partir dos seis meses devido ao período de incubação da doença (BRASIL, 2014).

Sendo assim, a população em estudo foi constituída por cães domiciliados em quatro bairros urbanos do Distrito Tirirical, de ambos os sexos, com ou sem raça definida, idade mínima de seis meses, cujos proprietários aceitaram participar do estudo, após conhecimento

dos objetivos e importância do mesmo, mediante assinatura do TCLE (Anexo A), entre outubro de 2016 a dezembro de 2017.

#### 4.2.2 Avaliação clínica dos cães

O exame clínico foi realizado através do preenchimento da ficha clínica utilizada por Silva et al. (2017) (Anexo B), onde estão descritos 14 sinais clínicos, agrupados em sinais gerais, cutâneos e oculares; dentre eles sinais característicos da doença, como onicogribose (aumento das unhas), lesões em ponta de orelha e despigmentação do focinho. A ficha clínica possui pontuação variável de 0 a 19 pontos e foi preenchida de acordo com sua gravidade ou presença/ausência do sinal.

Para todos os procedimentos deste projeto os cães foram contidos mecanicamente com a utilização de focinheiras ou mordanças e examinados por médicos veterinários devidamente capacitados e treinados para tais atividades. As atividades desenvolvidas neste projeto, relacionadas aos cães, foram aprovadas pela Comissão de Ética e Experimentação Animal (CEEA), da Universidade Estadual do Maranhão, sob protocolo N° 030/2015 (Anexo C e D).

#### 4.2.3 Coleta de sangue

Após a avaliação clínica foram coletados 5mL de sangue venoso, através da veia cefálica em cães de médio e grande porte, e pela veia jugular externa em cães de pequeno porte, com agulha hipodérmica descartável calibre 25x7 mm. Este volume foi armazenado em tubos sem anticoagulante para análise sorológica.

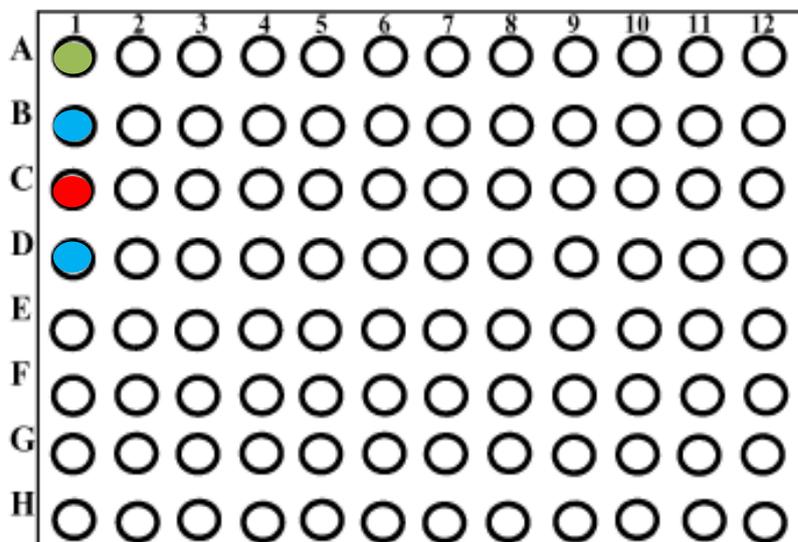
As amostras foram transportadas sob refrigeração, dos locais de coletas para o Laboratório de Anatomopatologia da Universidade Estadual do Maranhão. Em laboratório as amostras foram deixadas em temperatura ambiente até a retração completa do coágulo e, após, foram centrifugadas a 252G, durante 15 minutos, para obtenção dos soros, que foram armazenados em tubos de propileno e acondicionados a - 20°C até a realização do teste sorológico no Laboratório de Imunodiagnóstico da UEMA.

#### 4.2.4 Análise sorológica

Para análise sorológica foi utilizada o teste ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*), que é baseado na interação antígeno-anticorpo, por meio do Kit para Diagnóstico do Calazar Canino ELISA/S7® (Biogene).

Para a realização da técnica, seguiu-se as recomendações do fabricante. Em resumo, foram necessárias as seguintes etapas: 1) Diluição das amostras; 2) Realização dos testes e; 3) Determinação do título das amostras reagentes. Na primeira etapa, os soros foram diluídos na Solução de Diluição e incubados por duas horas em temperatura ambiente. Os soros hemolisados foram neutralizados, incubados por 20 minutos a 56°C, antes da diluição. Os soros testes foram diluídos a 1:100 (1µl do soro em 100µl da Solução de Diluição) e os soros controles pré-diluídos a 1:10 e, posteriormente, diluídos mais 10x no momento do uso.

Na etapa de realização do teste, no primeiro poço (A1) foi colocado 100µL de PBST (Phosphate Buffered Saline with Tween), funcionando como branco para o ELISA. Os soros controles (100µL) foram distribuídos nos poços B1 e D1 (não reagente) e C1 (reagente) (Figura 4) e os soros testes (100µL) nos demais poços. Após a preparação da placa, esta foi incubada em temperatura ambiente (T.A) por 30 minutos. Após este período de tempo, a placa foi lavada três vezes com PBST.



**Figura 4.** Representação esquemática da distribuição das amostras testes e controles na placa de ELISA, sendo a cor verde representativa do branco (PBST), a cor azul representando os controles não reagentes e a cor vermelho correspondendo ao controle reagente.

Fonte: Adaptado de Gil et al. (1999).

Posteriormente, foi realizada a distribuição da solução do conjugado (100 $\mu$ L), diluindo 1 $\mu$ L do conjugado em 10 $\mu$ L de PBST, novamente a placa foi incubada por mais 30 minutos em T.A, e na sequência lavada três vezes com o PBST.

A solução reveladora foi preparada conforme estabelecido pelo fabricante, distribuída nos poços (100 $\mu$ l). Após a inserção da solução reveladora, a placa foi incubada novamente por 20 minutos no escuro, decorrido este tempo foi acrescentado 100 $\mu$ l da solução de parada por poço, realizada a limpeza e secagem do fundo da placa para então ser efetuada a leitura da placa de ELISA a  $\lambda=450$  nm.

Todos os cálculos foram realizados segundo as recomendações do fabricante (Biogene), sendo assim o ponto de corte foi calculado a partir da média das densidades ópticas (D.O) dos soros não reagentes somado ao fator R (0,142).

Os animais reagentes (soropositivos) para leishmaniose no teste ELISA foram classificados em:

- i. Sintomáticos - quando o exame sorológico for reagente e seu escore clínico for  $\geq 4$ ;
- ii. Assintomáticos - quando o exame sorológico for reagente e o escore clínico variar de 0 a 3.

#### **4.3 Análise dos casos de leishmaniose visceral humana**

O levantamento dos casos humanos de LV notificados em São Luís, Maranhão, foi realizado no período de 2007 a 2016, por meio dos registros da Superintendência de Vigilância Epidemiológica e Sanitária da SEMUS/São Luís – MA. Vale destacar que no intervalo de 2013 a 2016, o Centro de Controle de Zoonoses paralisou suas ações de identificação de reservatórios caninos positivos e recolhimento dos mesmos.

A partir dos dados obtidos, foram analisadas longitudinalmente a incidência da doença e variáveis, tais como idade, bairro da residência, raça, grau de escolaridade e sexo.

Os cálculos das taxas de incidência da doença foram realizados considerando os casos humanos notificados, tendo como denominador a estimativa populacional fornecida pelo IBGE, multiplicados por 100 mil habitantes.

Como critérios de inclusão foram selecionados apenas os casos de LVH em indivíduos residentes no município, notificados no período estabelecido, considerando a área de residência, sugerindo autoctonia da doença nas localidades.

A coleta dos dados de notificações de LV em humanos foi autorizada por meio do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade Estadual do Maranhão, sob parecer 2.453.899 (ANEXO E).

#### **4.4 Análise estatística**

Os dados obtidos foram analisados utilizando os testes Qui-quadrado e Exato de Fisher. Estas análises foram realizadas no Programa Stata14, sendo os resultados considerados estaticamente significativos quando  $p \leq 0,05$ .

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Inquérito amostral canino

Dos 190 cães avaliados clinicamente no Distrito Tirirical de São Luís, MA, 50 eram pertencentes ao bairro São Cristovão, 49 cães do Jardim América, 46 da Cidade Olímpica e 45 da Cidade Operária. Dentre as 190 amostras sorológicas analisadas, foi encontrada uma porcentagem de 45,8% ( $p=0,0001$ ) de cães soropositivos para *Leishmania* spp., correspondente a 87 animais neste inquérito amostral. Dentre os 87 animais positivos para LV, o bairro Cidade Operária possui o maior número de cães ( $n=32$ ) e o bairro São Cristovão o menor ( $n=8$ ) (Tabela 2).

**Tabela 2.** Frequências absolutas e relativas dos cães soropositivos e soronegativos para leishmaniose visceral (LV) em bairros do Distrito Tirirical, São Luís/MA (2016/2017).

Bairros	Soropositivo		Soronegativo		Total (n)	P valor
	n	%	n	%		
Cidade Operária	32	71,1	13	28,9	45	0,0001*
Cidade Olímpica	27	58,7	19	41,3	46	
Jardim América	20	40,8	29	59,2	49	
São Cristovão	8	16	42	84	50	
<b>Total</b>	<b>87</b>	<b>45,8</b>	<b>103</b>	<b>54,2</b>	<b>190</b>	

\* quando o valor de P for estatisticamente significativo.  
P valor calculado pelo Teste Qui-quadrado.

Entre os 190 cães analisados, 50,5% (96/190) eram machos e 49,5% (94/190) fêmeas. Dentre os animais positivos para *Leishmania*, obteve-se uma porcentagem de 55,2% machos (48/87) para 44,8% de fêmeas (39/87). A positividade para leishmaniose visceral relacionada ao sexo dos animais não foi estatisticamente significativa ( $p = 0,585$ ) (Tabela 3).

**Tabela 3.** Frequência de cães positivos para leishmaniose visceral (LV) no Distrito Tirirical, São Luís, MA, classificados quanto ao sexo, no período de 2016 a 2017.

Bairros	Machos		Fêmeas		Total	P valor
	N	%	n	%		
Cidade Operária	15	46,9	17	53,1	32	0,585
Cidade Olímpica	16	59,3	11	40,7	27	
Jardim América	13	65	7	35	20	
São Cristovão	4	50	4	50	8	
<b>Total</b>	<b>48</b>	<b>55,2</b>	<b>39</b>	<b>44,8</b>	<b>87</b>	

\* quando o valor de P for estatisticamente significativo.  
P valor calculado pelo Teste Qui-quadrado.

Quanto à classificação das raças dos animais analisados, há uma predominância de cães sem raça definida (SRD) totalizando um grupo de 144 animais, seguidos de cães de raça poodle (n=23) e 9 cães da raça pinscher. Animais de outras raças também participaram deste estudo, porém em menor quantidade. Entre os animais positivos para *Leishmania*, 78,2% (68/87) não possuíam raça definida e 21,8% (19/87) pertenciam a alguma raça. (Tabela 4).

**Tabela 4.** Frequência de cães amostrados no Distrito Tirirical de São Luís, MA, por raça e soropositividade para leishmaniose visceral (LV), entre 2016 a 2017.

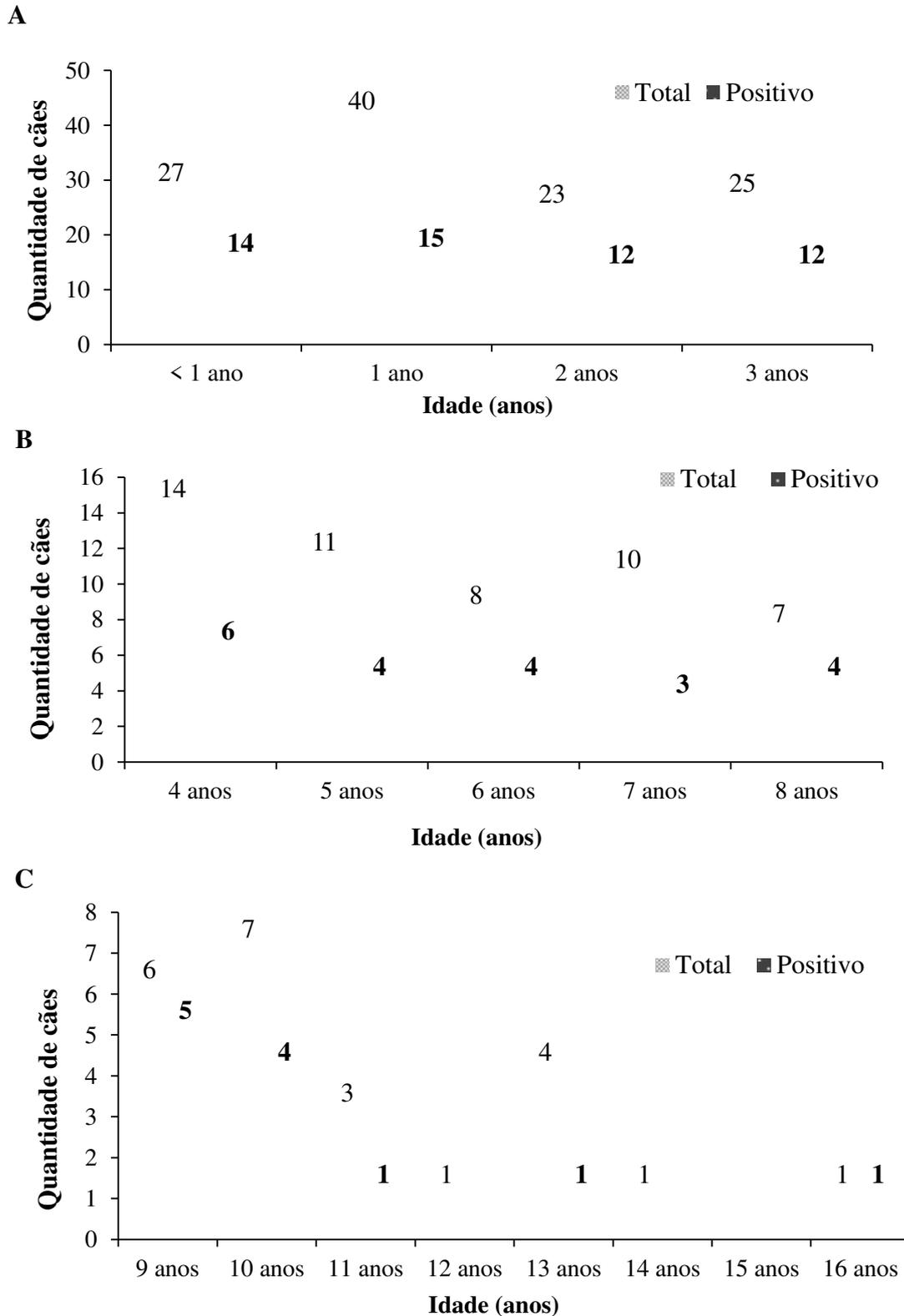
	SRD		CRD		Total	P valor
	n	%	n	%		
<b>Positivo</b>	68	78,8	19	21,8	87	0,502
<b>Negativo</b>	76	73,8	27	26,2	103	
<b>Total</b>	144	75,8	46	24,2	190	

\* quando o valor de P for estatisticamente significativo.

P valor calculado pelo Teste Exato de Fisher.

SRD = Sem Raça Definida; CRD = com raça definida.

Quanto à idade dos animais participantes do estudo, 60,5% dos cães eram jovens (115/190), com idade até três anos; 26,3% eram adultos (56/190), ou seja, com a idade entre 4 a 8 anos; 12,1% eram animais idosos (23/190), com idade a partir de nove anos; e 1,1% dos animais não tiveram sua idade informada (2/190). Entre os 87 cães positivos para LV, 61% correspondem a cães jovens, 24,1% aos adultos e 13,8% aos idosos (p=0,969) (Figura 5).



**Figura 5.** Distribuição dos cães positivos e negativos para leishmaniose visceral (LV), por idade no inquérito amostral realizado no Distrito Tirirical, São Luís – MA (2016/2017). (A) Distribuição dos cães por idade na categoria jovem ( $p = 0,866$ ). (B) Distribuição dos cães adultos ( $p = 0,957$ ) e (C) Distribuição dos cães idosos ( $p = 0,858$ ). Valores de P calculados pelo Teste Qui-quadrado.

Além dos sinais clínicos e dados do animal preenchidos na ficha de avaliação clínica, também foi realizado um levantamento sobre a proximidade das moradias dos cães a regiões de mata. Entre os animais amostrados neste estudo, 12,1 % (23/190) cães residem próximos a esse tipo de região, dos quais 60,9% (14/23) animais são positivos para *Leishmania*, porém sem significância estatística ( $p=0,439$ ) (Tabela 5).

**Tabela 5.** Relação entre a proximidade da moradia dos cães com áreas de mata e positividade para leishmaniose visceral (LV) em bairros do Distrito Tirirical, São Luís, MA, entre 2016 a 2017.

Bairros	Animais domiciliados próximos às áreas de mata			P valor
	Positivos para LV	Negativos para LV	Total	
<b>Cidade Operária</b>	6	2	8	0,439
<b>Cidade Olímpica</b>	6	3	9	
<b>Jardim América</b>	1	2	3	
<b>São Cristovão</b>	1	2	3	
<b>Total</b>	<b>14</b>	<b>9</b>	<b>23</b>	

\* quando o valor de P for estatisticamente significativo.  
P valor calculado pelo Teste Qui-quadrado.

Neste estudo pode-se observar a manifestação clínica da LV de animais positivos, em duas formas: assintomática, com poucos ou nenhum sinal clínico, e sintomática que está relacionada à presença de sinais gerais/inespecíficos da infecção, como febre, apatia e linfadenomegalia, assim como característicos da doença, como o aumento das unhas (onicogrifose), emagrecimento, lesões cutâneas, blefarite e presença de secreções. Foram classificados como sintomáticos neste estudo, 46% dos cães (40/87), devido sua positividade no teste sorológico somado a um escore clínico maior ou igual a quatro. A população de assintomáticos representou 54% da amostragem positiva para LV (47/87) (Tabela 6).

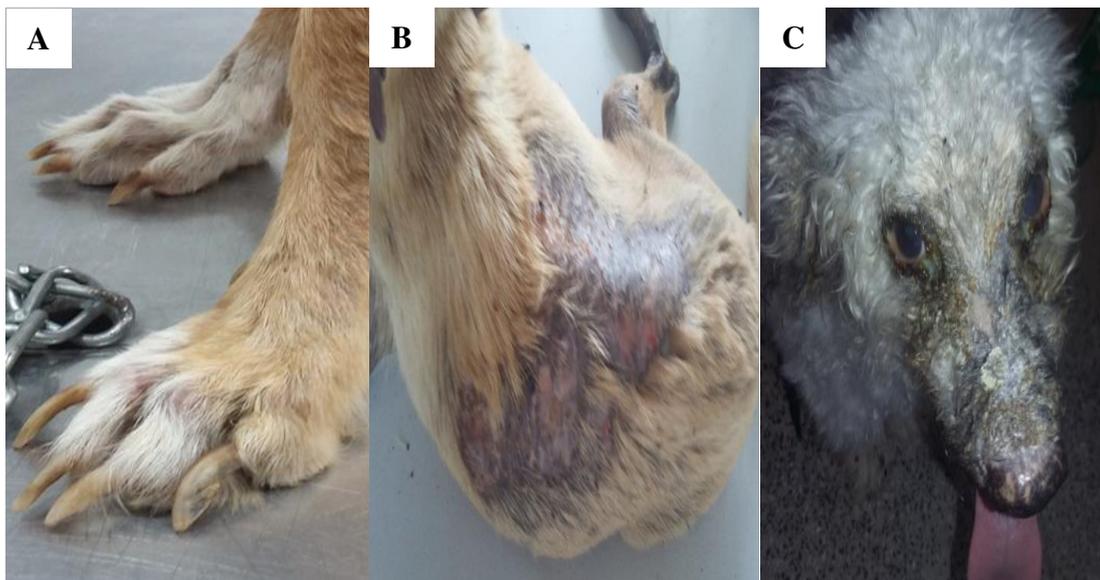
**Tabela 6.** Distribuição de cães positivos para leishmaniose visceral (LV), em bairros do Distrito Tirirical em São Luís – MA, quanto à manifestação clínica, entre os anos 2016 a 2017.

	Sintomático		Assintomático		Total	P valor
	N	%	N	%		
<b>Cidade Operária</b>	15	46,9	17	53,1	32	0.374
<b>Cidade Olímpica</b>	15	55,6	12	44,4	27	
<b>Jardim América</b>	6	30	14	70	20	
<b>São Cristovão</b>	4	50	4	50	8	
<b>Total</b>	<b>40</b>	<b>46</b>	<b>47</b>	<b>54</b>	<b>87</b>	

\* quando o valor de P for estatisticamente significativo.  
P valor calculado pelo Teste Qui-quadrado.

Durante a avaliação clínica dos animais neste estudo, pode-se notar os sinais clínicos da LV divididos em três grupos: os sinais gerais, onde estão inseridos sinais que não são exclusivos da doença, mas que estão fortemente relacionados à parasitose, como o emagrecimento, a presença de mucosas hipocoradas (pálidas) e o aumento dos linfonodos; os sinais cutâneos, como as lesões de pele e ponta de orelha, a queda do pelo (alopecia), despigmentação do focinho e o aumento das unhas, que é um dos sinais mais associados a doença; e os sinais oculares como a presença de secreções, que podem ser do tipo serosa ou mucopurulenta, além da blefarite, que consiste em uma inflamação do bordo externo das pálpebras.

Em todos os locais de coleta foram encontrados cães com sinais sugestivos de leishmaniose, como o aumento das unhas (28,4%), lesões de pele (16,3%), lesões de focinho e orelha (13,2%), despigmentação do focinho (6,3%) e blefarite (5,8%) (Figura 6).



**Figura 6.** Sinais clínicos em cães com leishmaniose visceral (LV), no Distrito Tirirical de São Luís, MA. (A) Onicogrifose. (B) Área alopécica e com lesões de pele e (C) Blefarite e secreção mucopurulenta.

Fonte: Elaborada pela autora.

Estaticamente, apenas o estado nutricional caquético foi significativo para esta amostra em estudo ( $p=0.001$ ) (Tabela 7). Quanto à associação dos sinais clínicos nos cães positivos, 37 animais (42,5%) apresentaram sinais gerais e cutâneos, sendo os mais frequentes: linfadenomegalia, mucosas hipocoradas, estado nutricional magro, pelagem regular e onicogrifose.

Os sinais oculares obtiveram uma baixa frequência entre os 190 animais do estudo. A blefarite obteve um percentual de 5,8% (11/190) e a presença de secreção mucopurulenta ou serosa em 5,8% (4/190) e 2,1% (11/190), respectivamente (Tabela 7). Além da baixa frequência registrada, os sinais oculares foram encontrados sempre associados à outra categoria de sinal, como apenas sinais gerais (n=1), cutâneo (n=3) e geral/cutâneo (n=11). Dentre os animais assintomáticos, treze (14,9%) não apresentaram nenhum sinal clínico (escore 0).

**Tabela 7.** Frequência dos sinais clínicos encontrados na avaliação dos cães submetidos ao inquérito amostral de leishmaniose visceral, realizado no Distrito Tirirical, São Luís, MA (2016/2017).

Sinais	Variáveis	Todos os cães		Cães positivos para LV		P valor	
		n	%	n	%		
<b>Gerais</b>	<b><u>Condição Geral</u></b>	Ativo	183	96,3	81	93,1	0,238 <sup>b</sup>
		Apático	7	3,7	6	6,9	
	<b><u>Ectoparasitas</u></b>	Ausência	114	60	46	52,9	0,481 <sup>a</sup>
		Pulgas	14	7,4	9	10,3	
		Pulgas e Carrapatos	62	32,6	32	36,8	
	<b><u>Estado Nutricional</u></b>	Normal	165	86,8	69	79,3	0,0001 <sup>*a</sup>
		Magro	23	12,1	16	18,4	
		Caquético	2	1,1	2	2,3	
	<b><u>Linfonodos</u></b>	Normal	118	62,1	48	55,2	0,293 <sup>b</sup>
		Aumentados	72	37,9	39	44,8	
	<b><u>Mucosas</u></b>	Normal	167	87,9	73	83,9	0,447 <sup>b</sup>
		Pálidas	23	12,1	14	16,1	
	<b><u>Hemorragia externa</u></b>	Ausente	186	97,9	84	96,6	0,682 <sup>b</sup>
		Presente	4	2,1	3	3,4	
<b>Cutâneos</b>	<b><u>Pelagem</u></b>	Boa	142	74,7	60	69	0,282 <sup>a</sup>
		Regular	38	20	18	20,7	
		Ruim	10	5,3	9	10,3	
	<b><u>Lesão no focinho/orelha</u></b>	Ausente	165	86,8	72	82,8	0,364 <sup>b</sup>
		Presente	25	13,2	15	17,2	
	<b><u>Lesão de pele</u></b>	Ausente	158	83,2	65	74,7	0,247 <sup>a</sup>
		Presente	31	16,3	21	24,1	
	<b><u>Úlcera</u></b>	Ausente	178	93,7	78	89,7	0,327 <sup>b</sup>
		Presente	12	6,3	9	10,3	
	<b><u>Alopecia</u></b>	Ausente	162	85,3	71	81,6	0,480 <sup>b</sup>
		Presente	28	14,7	16	18,4	
	<b><u>Unhas</u></b>	Normais	136	71,6	57	65,5	0,326 <sup>b</sup>
		Aumentadas	54	28,4	30	34,5	
	<b>Oculares</b>	<b><u>Blefarite</u></b>	Ausente	179	94,2	78	89,7
Presente			11	5,8	9	10,3	
<b><u>Secreção</u></b>		Ausente	175	92,1	76	87,4	0,453 <sup>a</sup>
	Serosa	4	2,1	3	3,4		
	Mucopurulenta	11	5,8	8	9,2		

\* quando o valor de P for estatisticamente significativo.

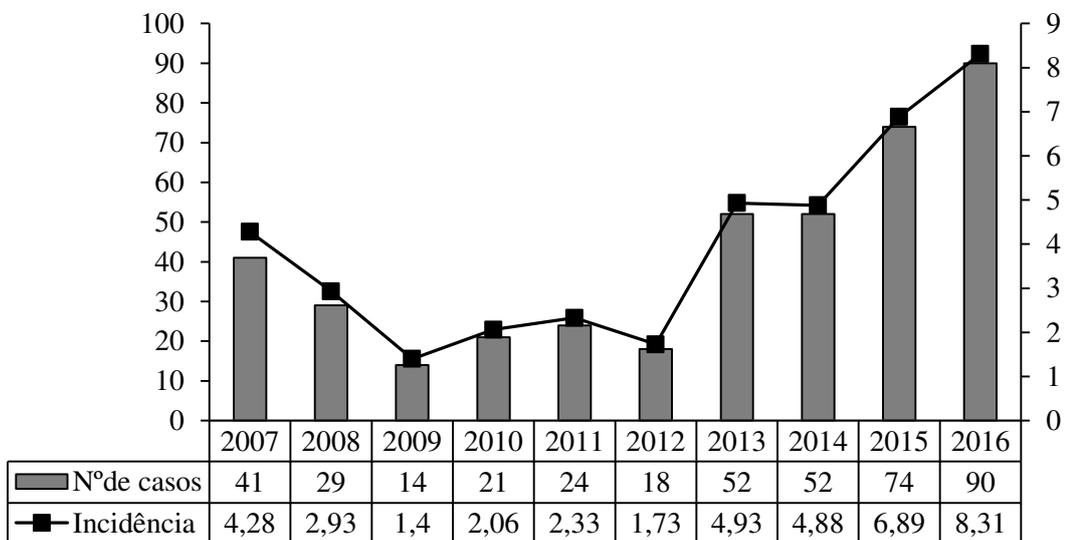
<sup>a</sup> P valor calculado pelo Teste Qui-quadrado.

<sup>b</sup> P valor calculado pelo Teste Exato de Fisher.

## 5.2 Análise dos casos notificados de leishmaniose visceral em humanos em São Luís, Maranhão

Segundo os dados obtidos pela Superintendência de Vigilância Epidemiológica e Sanitária da Secretaria Municipal de Saúde de São Luís, de 2007 a 2016 foram confirmados e notificados ao Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) 415 casos de leishmaniose visceral humana (LVH) na cidade, com uma média de 41,5% casos por ano. Os dados referentes ao ano 2017 ainda não foram finalizados no sistema, portanto ainda não disponibilizados.

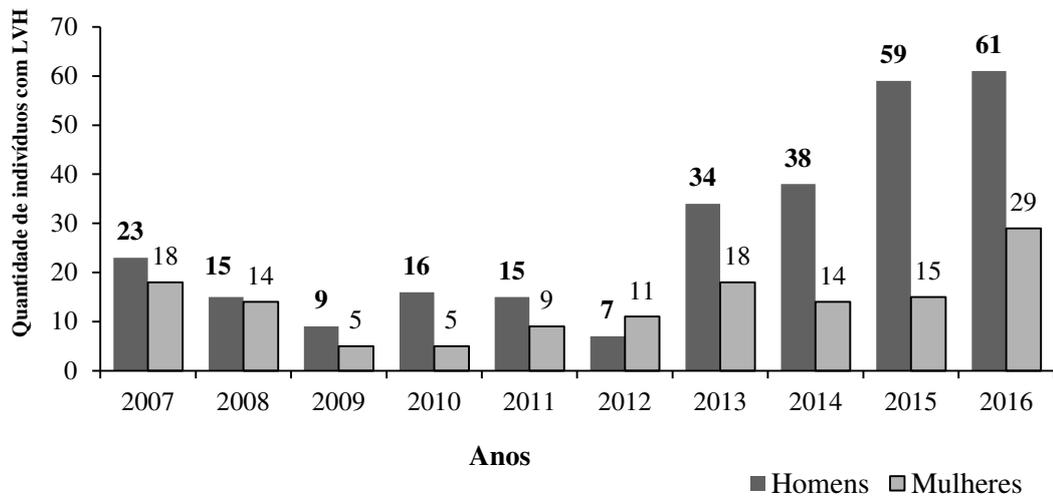
Na Figura 7 é possível observar que no período de 2008 a 2012 houve uma diminuição na quantidade de casos notificados em relação a 2007. No entanto, a partir de 2013, ano em que houve a interrupção das atividades do Centro de Controle de Zoonoses, até 2016 nota-se um crescente registro de casos de LVH e da incidência desta, onde é possível observar que 2016 encerra com uma quantidade alta de casos de LVH (n=90) e um alto coeficiente de incidência por 100.000 habitantes (8,31).



**Figura 7.** Distribuição do número de casos e incidência da leishmaniose visceral humana (LVH) durante 10 anos em São Luís, MA. Incidência por 100.000 habitantes.

Fonte: Secretária Municipal de Saúde de São Luís, Maranhão (SEMUS).

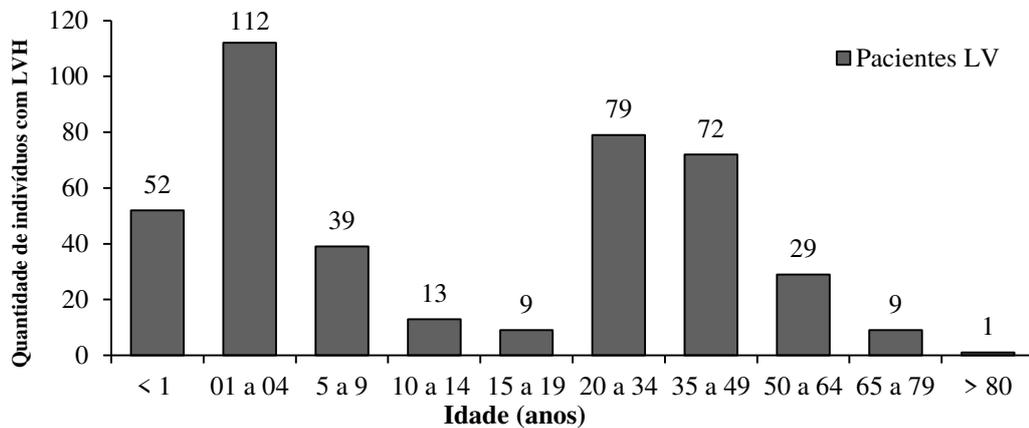
Entre os casos notificados, 66,7% (277/415) eram do sexo masculino e 33,3% (138/415) feminino. De 2007 a 2016, o sexo masculino demonstrou-se predominante com a presença da LVH, com exceção do ano 2012 com 18 casos, nos quais onze eram pertencentes ao sexo feminino (Figura 8).



**Figura 8.** Distribuição quanto ao sexo dos indivíduos com LVH em São Luís - MA, entre 2007 a 2016.

Fonte: Secretária Municipal de Saúde de São Luís, Maranhão (SEMUS).

Quanto às faixas etárias encontradas no período analisado, 48,9% (203/415) casos notificados, pela Secretária Municipal de Saúde de São Luís, eram crianças de até nove anos de idade. Apenas uma pessoa idosa com idade igual ou superior a 80 anos foi acompanhada com a parasitose no mesmo período (Figura 9).



**Figura 9.** Distribuição da faixa etária de indivíduos com leishmaniose visceral humana em São Luís, MA, de 2007 a 2016.

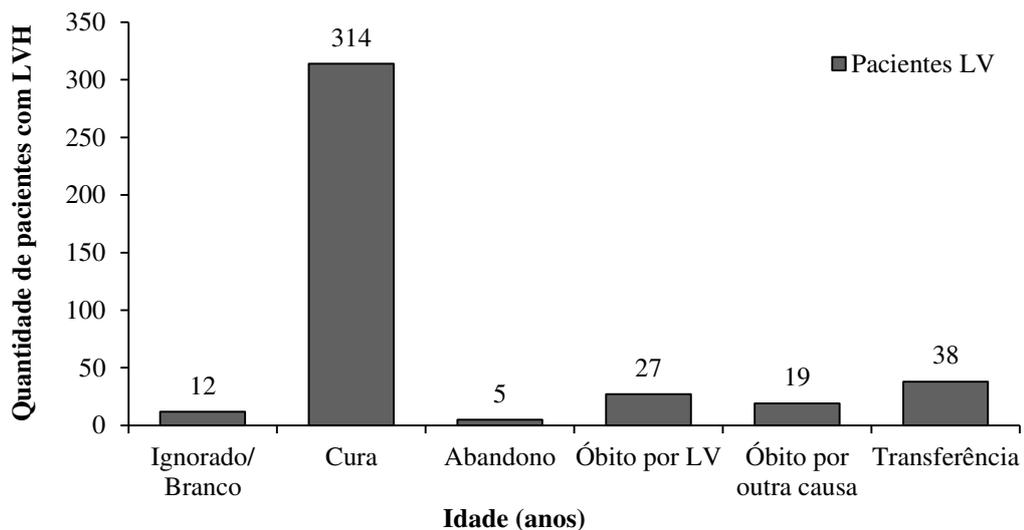
Fonte: Secretária Municipal de Saúde de São Luís, Maranhão (SEMUS).

Quanto às frequências de raças relacionadas à LV, 299 casos foram registrados a partir de pessoas de raça parda, enquanto 97 casos se dividiram entre as raças preta (n=60), branca

(n=35) e amarela (n=2), sendo dezenove casos classificados como ignorados, ou seja, que não foram preenchidos na ficha de investigação do paciente.

O nível de escolaridade das 415 pessoas com LV foi um dado da ficha de investigação bastante ignorado pelos responsáveis no preenchimento da mesma; pois 66,3% dos pacientes foram inseridos nas categorias “ignorado” e “não se aplica”. Entre os pacientes que tiveram sua escolaridade informada, a maioria estava inserida nas categorias “1ª a 4ª série incompleta do ensino fundamental (EF)” e “5ª a 8ª série incompleta do EF”, com 28,6% e 27,1%, respectivamente.

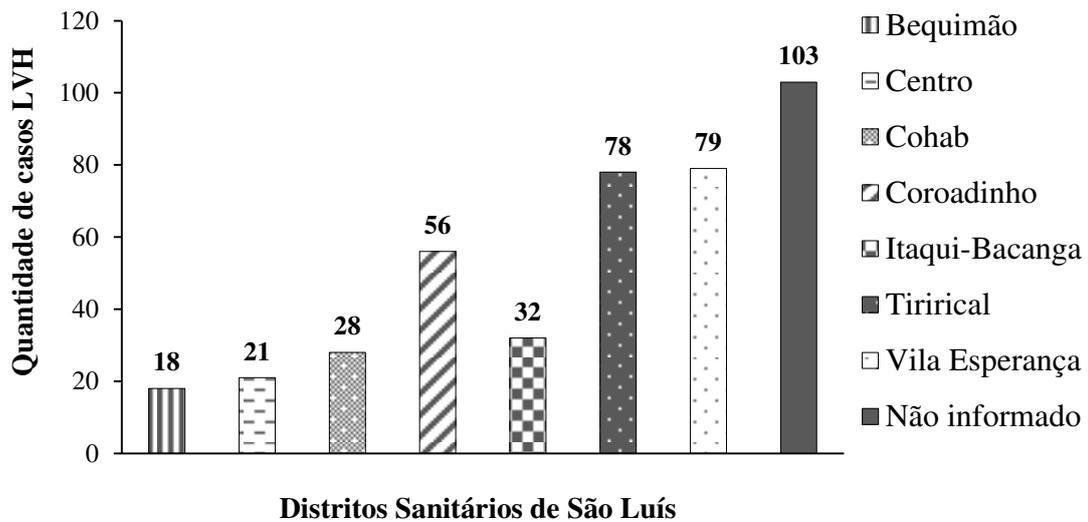
Quanto à evolução dos casos notificados de LVH de 2007 a 2016, 75,7% (314/415) indivíduos com LVH evoluíram para a cura clínica. Quanto à mortalidade, 6,5% (27/415) pessoas vieram ao óbito pela doença e 4,6% (19/415) faleceram por outras causas (Figura 10). A taxa de letalidade no período analisado foi de 6,51.



**Figura 10.** Evolução dos casos notificados de leishmaniose visceral humana em São Luís, MA, entre 2007 a 2016.

Fonte: Secretária Municipal de Saúde de São Luís, Maranhão (SEMUS), 2017.

Sabe-se que o distrito Tirirical foi o primeiro entres os setes distritos a registrarem a parasitose na capital do Maranhão, com a presença de casos caninos e humanos. Segundo a Figura 11, o distrito Tirirical conjuntamente à Vila Esperança são os locais com as maiores quantidades de registros entre 2007 a 2016 com 78 (18,8%) e 79 casos (19%), respectivamente.



**Figura 11.** Distribuição dos casos notificados de leishmaniose visceral humana (LVH), entre os anos de 2006 a 2016, em São Luís, MA por distrito sanitário.  
Fonte: Secretária Municipal de Saúde de São Luís, Maranhão (SEMUS).

Observa-se que 24,8% ( $p = 0,001$ ) dos 415 casos não foram preenchidos na ficha de investigação ou registrados no sistema da notificação quanto ao distrito de origem, demonstrando uma falha estatisticamente significativa neste serviço, pois a partir do registro da moradia do paciente os órgãos responsáveis poderiam realizar as investigações epidemiológicas e conduta terapêutica. Destaca-se que entre 2007 a 2009 há uma grande quantidade de casos não registrados quanto à origem do seu distrito ( $n=63$ ) e só após 2010, foi possível observar uma melhoria no registro dos casos quanto a este tipo de informação (Tabela 8).

**Tabela 8.** Registro de casos de LVH por ano, associados aos distritos sanitários de São Luís, MA.

Anos	Registro de casos de LVH por ano		Total
	Registrado ao distrito N	Não registrado ao distrito n	
2007	2	39	41
2008	18	11	29
2009	1	13	14
2010	13	8	21
2011	19	5	24
2012	14	4	18
2013	50	2	52
2014	45	7	52
2015	66	8	74
2016	84	6	90
<b>Total</b>	<b>312</b>	<b>103</b>	<b>415</b>

\* $p = 0,0001$

Fonte: Secretária Municipal de Saúde de São Luís, Maranhão (SEMUS).

Dentro do distrito Tirirical existe uma grande quantidade de bairros, e com a crescente demanda populacional vilas e invasões tendem a se tornar bairros nessa região. Como observado, o distrito Tirirical de 2007 a 2016 registrou um total de 78 casos notificados, nos quais dezesseis não foram informados na ficha de investigação e/ou registrado no sistema quanto ao bairro dentro deste distrito. Entre os quatro bairros selecionados para a realização do inquérito amostral canino, três possuem registro de LVH nos últimos dez anos, com 5, 7 e 10 casos no período analisado, sendo eles o São Cristovão, Cidade Operária e Cidade Olímpica, respectivamente (Tabela 9).

**Tabela 9.** Frequência de casos de leishmaniose visceral humana por ano da notificação nos bairros do distrito Tirirical.

Bairros	Anos								Total
	2008	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	
Conj. Ipem São Cristovão	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Conj. São Raimundo	0	0	1	0	1	2	3	0	7
<b>Jd. São Cristovão</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>5</b>
Joao de Deus	0	0	0	0	0	0	1	1	2
Santo Antônio	0	0	0	1	0	0	1	0	2
São Bernardo	0	0	0	0	0	0	2	1	3
Vila Brasil	0	0	0	0	0	0	1	1	2
Vila Cascavel	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Vila Coronel Riod	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<b>Cidade Olímpica</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>10</b>
Vila Edson Lobão	0	0	1	0	0	0	0	0	1
Vila Santa Clara	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Vila Santa Efigênia	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Vila Vitoria	0	0	0	0	1	3	1	1	6
Cajupari	0	1	0	2	0	0	0	1	4
Cruz de Santa Barbara	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Santa Barbara	0	0	1	1	2	0	0	0	4
Tajaçuba	0	0	0	0	0	1	0	0	1
<b>Cidade Operária</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>7</b>
Vila Magril	0	0	1	0	0	0	0	0	1
Vila Dom Luís	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Não Informado	1	2	0	0	1	1	0	11	16
<b>Total</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>11</b>	<b>9</b>	<b>18</b>	<b>24</b>	<b>78</b>

Fonte: Secretária Municipal de Saúde de São Luís, Maranhão (SEMUS).

## 6 DISCUSSÃO

### 6.1 Inquérito amostral canino

De acordo com o Ministério da Saúde, o inquérito amostral canino deve ser realizado em dois tipos de situações: (i) quando o município for silencioso e receptivo, ou seja, onde *L. longipalpis* já foi detectado, mas não tenha sido confirmada a transmissão da LV humana ou canina, com a finalidade de verificar ausência de parasitose; e (ii) quando o município possuir transmissão moderada e intensa, permitindo avaliar as taxas de prevalência em cada setor, a fim de identificar as áreas prioritárias a serem trabalhadas (BRASI, 2014). Sabe-se que o município de São Luís é uma região endêmica para a leishmaniose, dessa forma a escolha por este tipo de inquérito foi realizado para tentar alcançar a segunda situação mencionada, isto é determinar áreas prioritárias para implementação de estratégias preventivas, como no bairro Cidade Operária.

Estudos realizados no município de São Luís demonstraram que em determinadas localidades do distrito Tirirical, como o bairro São Raimundo e seu entorno, a soroprevalência de cães com leishmaniose pode atingir valores superiores a 70% (OLIVEIRA et al., 2006). No inquérito amostral canino, anteriormente realizado a este estudo, foi encontrada uma porcentagem de 67% de cães positivos para leishmaniose no distrito Tirirical. Entretanto, ao comparar as duas prevalências, que foram encontradas entre o intervalo de sete anos, percebe-se que os resultados de Barbosa et al. (2010) são correspondentes a 67 animais de uma amostra total de 100 cães.

Além da diferença no número amostral de cães entre os dois estudos, ambos abrangeram localidades diferentes, o que pode ter influenciado na diferença de porcentagem entre os estudos. As áreas selecionadas por Barbosa et al. (2010) incluíam bairro, vilas e povoados com características urbana, semiurbana e rural, que foram selecionadas pelos fatores de positividade canina e elevado índice de casos humanos informados pelo Centro de Controle de Zoonoses. Ainda quanto à localidade, apenas a Cidade Operária é encontrada em ambos os estudos, sendo a área com a maior prevalência de cães positivos, de 67% (14/21) em 2010 e 71,1% (32/45) em 2017, demonstrado que este bairro necessita de uma maior atenção quanto às estratégias de controle e prevenção da LVC.

É importante destacar que o ELISA/S7®, utilizado para a detecção dos animais soropositivos neste estudo, tem como base um peptídeo recombinante, produzido por engenharia genética, que permite a detecção de anticorpos na fase mais precoce da infecção. O emprego desse antígeno no kit para o diagnóstico do calazar canino possui especificidade média de 94,3% podendo alcançar 100%, com sensibilidade média de 89%, podendo alcançar 96,4% (ANDRADE; ANDRADE, 1995; ANDRADE et al., 1998; QUEIROZ et al., 1997).

Segundo os fabricantes, por ter como base um peptídeo recombinante o Kit ELISA/S7® não reage cruzadamente com os anticorpos vacinais gerados por vacinas atualmente disponíveis no mercado nacional (SANTOS et al., 2007), sendo assim, testes realizados com soros de cães vacinados serão positivos apenas se o animal estiver realmente infectado. Dentre os cães participantes deste estudo, nenhum animal foi vacinado contra a LV, de acordo com os proprietários.

Discordâncias quanto à significância de características individuais e biológicas, como idade, sexo e raça, encontradas na literatura refletem provavelmente o papel epidemiológico que desempenham nas localidades em estudo (JULIÃO et al., 2007).

O sexo dos cães é uma variável bastante discutida, uma vez que estudos apontam que essa variável pode representar um fator de risco para a infecção por *Leishmania* spp., com a observação de maior predisposição em machos (DANTAS-TORRES et al., 2006; JULIÃO et al., 2007; MIRANDA et al., 2008).

Neste estudo, não foi observada significância estatística entre os animais positivos para LV segundo ao sexo. Dos 87 cães positivos, 55,2% (48/87) eram machos e 44,8% (39/87) fêmeas. De acordo com Toscano et al. (2013), *Lutzomyia longipalpis* realiza a hematofagia de forma aleatória, sendo a prevalência da infecção dependente da proporção de machos e fêmeas na população de cada região (TOSCANO et al., 2013)

A LV pode acometer animais de qualquer idade, entretanto, a parasitose em cães caracteriza-se por ocorrer de forma bimodal, isto é, o primeiro pico ocorre em animais com menos de três anos de idade e o segundo pico em animais entre oito a dez anos (PALTRINIERI et al., 2010).

De acordo com França- Silva (2003) e Almeida et al. (2010) existe uma predisposição em cães adultos serem encontrados em maior frequência parasitados por *Leishmania* do que animais jovens. Esta predisposição é associada, possivelmente, ao período de incubação do

parasito, que pode variar de dois meses até vários anos (TROTTS-WILLIAMS; GRADONI, 2003).

Nos estudos de Dantas-Torres et al. (2006), Medeiros et al. (2008) e Figueiredo et al. (2014) foram observadas positivities sorológicas significativas em cães jovens, justificadas, possivelmente, pela resposta imune ser menos eficiente, comparado a um indivíduo adulto, tornando-os bastante vulneráveis para contrair a infecção.

Nos resultados obtidos neste estudo, foram encontrados cães positivos nas três categorias: jovem, adulto e idoso. Entre os cães idosos, 52,2% (12/23) estavam positivos para leishmaniose, 46,1% (53/115) e 42% (21/50) dos cães jovens e adultos, respectivamente, também estavam positivos para o protozoário. Entretanto, neste estudo não foi observada significância estatística entre as proporções de idade e positividade, demonstrando que para estas localidades de estudo não há predisposição etária para desenvolvimento da infecção, assim como nos estudos de Seixas et al. (2012).

Pesquisas relatam que locais com habitações próximas a galinheiros, zonas de mata, presença de animais silvestres e com condições sanitárias insatisfatórias demonstram uma tendência para a abundância de vetores e reservatórios da doença, revelando um soroprevalência canina alta (GUIMARÃES et al., 2005; OLIVEIRA, et al., 2006; BIGELLI et al., 2012). Esses tipos de observações caracterizam-se como importantes fatores na caracterização do perfil da doença nas localidades de estudo, relacionando-se com as variáveis epidemiológicas, na tentativa de identificar áreas de maior risco para a ocorrência da leishmaniose canina (BARBOSA et al., 2010).

Neste estudo, dos 23 animais domiciliados próximos a região de mata, 14 (60,9%) cães estavam positivos para *Leishmania*. Nos estudos de Silva et al. (2005) foi observada uma correlação direta com a incidência de casos caninos com a proximidade de zonas de mata no litoral do Rio de Janeiro. Em Palmas (TO) também foi encontrada este tipo de associação, no entanto para casos humanos de LV com áreas verdes no interior ou nas adjacências das residências (GLÓRIA, 2006).

No estudo de Costa et al. (2015) realizado com cães de outras localidades do estado do Maranhão, a associação entre cães positivos com proximidade a áreas de mata foi estatisticamente significativa ( $p = 0,001$ ). Além disso, fatores como presença de galinheiros ( $p = 0,001$ ) e de matéria orgânica no quintal ( $p = 0,002$ ) da residência dos cães, também foram estatisticamente significativos para os cães da localidade em estudo, tornando-se um fator

relevante no aumento do risco de infecção canina, uma vez que estas variáveis são importantes fatores de atração e/ou criação do vetor (*Lutzomyia longipalpis*) da doença (NUNES et al., 2008). Desta forma, a presença de mata ou de muita vegetação nas proximidades das residências pode ser um fator de risco para a ocorrência de LV, embora neste estudo os cães positivos próximos a áreas de mata não foram estatisticamente significativos ( $p=0.439$ ).

A linfadenomegalia foi o sinal mais frequente entre os cães positivos para LV ( $n=39/87$ ), corroborando com diversos estudos que apontam o aumento dos linfonodos como um sinal clínico comum em cães positivos para *Leishmania* (CIARAMELLA et al., 1997; TOSCANO et al., 2013; SILVA et al., 2017). No entanto, esta alteração clínica é comum a varias infecções, portanto não deve ser considerada uma resposta específica para LVC (SILVA et al., 2017).

Segundo Salzo (2008), dentre as principais alterações clínicas, as lesões cutâneas estão presentes entre 50 a 90% dos cães com LV. Entre os cães participantes deste estudo, 67,7 % (21/31), 60% (15/25) e 57,1% (16/28) possuíam ferimentos externos no corpo, de forma focal e/ou generalizada, no focinho ou orelha e áreas de alopecia, respectivamente, e estavam positivos para LV. Um dos principais motivos pelo aparecimento destas lesões ocorre devido à multiplicação do parasito em macrófagos, como os histiócitos (MARINHO et al., 2017).

Os sinais oculares também são comumente relatados em casos de LVC (PEÑA et al., 2000; BRITO et al., 2010). Estudos demonstraram que a prevalência de sinais oculares em cães infectados por *Leishmania* varia de 25% a 80% (CIARAMELLA et al., 1997; KOUTINA, et al., 1999). Neste estudo, entre os animais que apresentaram blefarite, secreções serosas e mucopurulentas, 81,8% (9/11), 75% (3/4) e 72,7% (8/11) dos cães, respectivamente, estavam positivos para LV.

As manifestações oculares não são usualmente a queixa principal do proprietário, pois ocorrem, em sua maioria, associadas a outros sinais sistêmicos da doença (PEÑA et al., 2000, ROZE, 2005), corroborando com os achados nesta pesquisa, na qual nenhum cão apresentou exclusivamente sinal ocular.

Embora a leishmaniose seja associada a alguns sinais clínicos característicos, alguns cães podem apresentar-se sob a forma assintomática, sem demonstração de sinais clínicos, tornando o diagnóstico clínico da LVC complexo (MANCIANTI et al., 1988, MANZILLO et al., 2013). Os cães LV sintomáticos podem apresentar uma manifestação clínica variável e

inespecífica, que varia de acordo com a fase da doença e imunidade do animal (CIARAMELLA et al., 1997; MANZILLO et al., 2013; RIBEIRO et al., 2013).

Vários estudos apontam que aproximadamente 50% a 60% dos cães infectados de áreas endêmicas são assintomáticos (ALVAR et al., 2004; DANTAS-TORRES; BRANDÃO-FILHO, 2006). Neste estudo, a população de cães positivos analisada apresentou maior número de animais assintomáticos (47 cães; 54%). Desta forma, é de suma importância a realização de inquéritos amostrais ou censitários, principalmente em áreas endêmicas para a zoonose, visto que cães com leishmaniose sendo assintomáticos podem passar despercebidos pela população.

Os resultados obtidos neste inquérito amostral canino são de grande importância e podem servir de alerta a saúde pública e aos setores competentes tanto na esfera municipal como estadual. Desta forma, espera-se que a nova Unidade de Vigilância em Zoonoses e os demais órgãos relacionados ao controle de endemias na cidade de São Luís alertem-se sobre a distribuição dos casos caninos nestes bairros em estudo, e que possam retomar os inquéritos censitários e abranger outros bairros do distrito Tirirical e os demais distritos sanitários de São Luís.

Além disso, espera-se que observem as localidades, onde proveio o maior número de casos da infecção, como o bairro Cidade Operária, para que sejam implementadas medidas de conscientização dos moradores, como palestras educativas em escolas e centro comunitários, tanto para o público adulto quanto infantil, orientando sobre os perigos da doença, cuidados com o cão e atenção para os sinais clínicos sugestivos da doença quando o mesmo apresentar. Indicando também, em casos de suspeita clínica em humanos, a procura dos serviços de saúde para o diagnóstico e o tratamento humano.

Também se sugere a adoção de medidas preventivas, como o combate sistêmico do vetor, telagem, coleta de lixo regular, nos locais que ainda não a possuem, controle de fluxo dos cães e recolhimento dos mesmos durante o crepúsculo (horário de maior atividade do vetor), limpeza periódica dos abrigos dos animais domésticos, utilização de coleiras repelentes com deltametrina a 4%, como medida de proteção individual para os cães.

## **6.2 Análise dos casos notificados de leishmaniose visceral em humanos em São Luís, Maranhão**

A LV é um reconhecido problema de saúde pública no Estado do Maranhão, entre os anos de 2001 a 2012 dos 42.778 casos de LV registrados no Brasil, 14,5% (6.218 casos) eram autóctones do Maranhão (SILVA et al., 2005; BARBOSA et al., 2010). O município de São Luís, é considerado uma área endêmica para a ocorrência desta doença. Em seu primeiro surto de calazar em 1982, foram registrados 32 casos da doença em dois bairros periféricos da cidade (SILVA et al., 1983).

De 2004 a 2006 foi realizado um estudo na Ilha de São Luís, na qual foram analisados 299 casos autóctones de LVH (SILVA et al., 2008) e, destes o município de São Luís deteve grande parte dos casos (50,5%), correspondendo a 151 casos da doença. Os outros três municípios pertencentes a Ilha de São Luís: São José de Ribamar, Paço do Lumiar e Raposa, possuíam 22,7% (68/299), 14,7% (44/299) e 12% (36/299) dos casos, respectivamente (SILVA et al., 2008).

A incidência da LV em São Luís apresenta flutuações ao longo dos anos, entretanto de 2000 a 2016, nenhum ano apresentou incidência de 15,8 casos por 100.000 habitantes como em 1999, no qual ocorreu um pico epidêmico da doença. Segundo Barbosa (2011), após este período epidêmico, os índices da doença decresceram até 2002, com um aumento nos dois anos seguintes de 5,43 para 6,68, seguidos por um decréscimo em 2005 a 2007. A partir dos dados de Barbosa (2011), conjuntamente a este estudo, é possível observar que a incidência da doença manteve-se baixa até a interrupção das atividades do Centro Controle de Zoonoses de São Luís, Maranhão, que era responsável pelo controle dos principais reservatórios da doença na cidade.

A análise do perfil epidemiológico da doença em humanos, considerando os 415 casos de 2007 a 2016, revelam que 48,9% dos indivíduos possuíam idade inferior ou igual a nove anos e 66,8% eram do sexo masculino, o que leva a inferir a existência de um padrão no perfil epidemiológico da doença nos humanos em São Luís, uma vez que nos estudos de Silva et al. (2008) e Barbosa (2011) 54,1% e 53% dos indivíduos eram do sexo masculino, respectivamente. Entre os 299 casos humanos de LV, analisados no período de 2004 a 2006 por Silva et al. (2008), foi observado que 83,6% dos casos ocorriam em menores de nove anos e dos 517 casos analisados por Barbosa (2011) 64,1% possuíam idade inferior ou igual a 4

anos. Embora a doença acometa pessoas de todas as idades, 41,9 a 80% dos casos registrados ocorrem em crianças com menos de 10 anos, sendo os registros após essa idade menos frequentes (GONTIJO; MELO, 2004; ALVAR et al., 2012; MARCONDES; ROSSI, 2013).

Em São Luís, grande parte dos pacientes analisados de 1999 a 2007 possuíam baixa renda e escolaridade (BARBOSA, 2011). Mesmo com o não preenchimento do nível de escolaridade dos indivíduos infectados por *Leishmania* de 2007 a 2016, a maioria possuía o ensino fundamental incompleto. Além da baixa escolaridade associada a LV, outras condições socioeconômicas também podem ser elencadas, como ausência ou precariedade no serviço de coleta de lixo, de água encanada ou de sistema de esgoto e condições de moradia precárias (CALDAS et al., 2001; 2002; BELO et al., 2013).

A LV é considerada uma doença fatal quando não tratada com antecedência (ALVAR et al., 2012). Todos os pacientes suspeitos de LV devem ser acompanhados até o desfecho (cura/óbito). Aqueles que vieram ao óbito devem ser investigados até à conclusão da causa básica da morte (LV x outras causas), sendo o prazo máximo para conclusão da investigação até 60 dias (BRASIL, 2014). Em São Luís, a proporção de indivíduos curados é alta. No período de 2004 a 2006 obteve-se uma porcentagem de 96,1% (SILVA et al., 2008) e de 75,7% em 2007 a 2016. Quanto aos índices de letalidade da doença na cidade, obteve-se um percentual de 7,6% no período de 1999 a 2007 (BARBOSA, 2011) e de 6,51 entre os anos de 2007 a 2016.

Os distritos Tirirical e Vila Esperança ao longo dos anos demonstram as maiores concentrações de casos da doença em humanos. No estudo de Barbosa (2011), além dos dois distritos mencionados anteriormente, o distrito Itaqui-Bacanga também possuía uma considerável quantidade de casos, diferindo da análise mais recente, uma vez que o Itaqui-Bacanga é o quarto entre sete distritos, em uma ordem decrescente dos casos. Os distritos Centro e Bequimão continuam a apresentar valores menores em relação à doença na área de estudo, porém o Coroadinho tido como um distrito com poucos casos da doença começa a se expressar a partir de 2013 em relação ao número de casos de LVH. O distrito Centro durante nove anos não apresentou nenhum registro da doença (BARBOSA, 2011). Entretanto de 2007 a 2016, o presente distrito somou um total de 21 casos, sendo o último ano em análise com o maior número de casos (n =13).

No distrito Tirirical, os bairros, vilas ou povoados que tiveram o maior número de casos humanos notificados no período de 1999 a 2007 foram a Vila Vitória (18), Vila Magril

(14) e Vila Cidade Olímpica (14). Entre todas as localidades com casos humanos de leishmaniose visceral, 80% eram áreas consideradas com características rurais (povoados). No distrito Tirirical somente a Vila Vitória e Cidade Olímpica foram caracterizadas como bairros de ambiente urbano (BARBOSA et al., 2010).

Estudos correlacionando a ocorrência de casos de leishmaniose visceral humana e canina tem sido realizados com frequência no país (CAMPOS et al., 2017, VIGILATO et al., 2004). Nos resultados de Vigilato et al. (2004) e Margonari et al. (2006) foram observadas correlações positivas entre as infecções canina e humana, tendo sido verificado que, quanto maior o número de cães positivos, maior o número de casos humanos. Apesar de existir bastante discordância entre os pesquisadores que a leishmaniose visceral canina seja uma causa necessária para a infecção humana (GONTIJO; MELO et al., 2004).

No intervalo de 1999 a 2007, os distritos sanitários de São Luís com as maiores quantidades de casos humanos também possuíam casos caninos ocorrendo na mesma região (BARBOSA, 2011). Uma análise mais recente sobre a sobreposição destes dois tipos de casos de LV poderia auxiliar na elaboração e ação de medidas profiláticas mais eficientes e direcionadas para cada distrito. Porém, não foi possível realizar esse tipo de análise devido a não disponibilização dos casos caninos atendidos pelo Centro de Controle de Zoonoses a partir de 2007, sob a afirmação de não existirem mais. Os dados caninos que seriam utilizados para correlacionar aos casos humanos seriam oriundos de inquéritos sorológicos realizado pelo CCZ, nos sete distritos sanitários de São Luís, e pela busca passiva dos proprietários dos cães.

A análise conjunta destes dados poderia demonstrar se os casos de LVH estão relacionados com os casos caninos: por meio da observação do caso relacionado com sua localidade e período de ocorrência; uma estimativa da prevalência da doença na cidade como uma toda, visto que inquéritos epidemiológicos realizados por pesquisas científicas tendem a limitar-se apenas a uma determinada região utilizando um número amostral pequeno quando comparado à quantidade total de cães na cidade.

Estudos anteriores realizados em São Luís destacavam as fragilidades do programa de vigilância e controle da LV na cidade, como a inexistência de um plano de trabalho que permitisse atuações sustentáveis, falta de financiamento, de veículos, de pessoal e de insumos. Além disso, as ações do Centro de Controle de Zoonoses como recolhimento e a eutanásia de cães positivos eram feitas de maneira descontínua, ocorrendo o mesmo em relação ao controle

de vetores (SILVA et al. 2008). A situação descrita perpetuou-se até a total interrupção das atividades do centro evidenciando a necessidade da reestruturação político-administrativa da unidade, além do planejamento e definição de áreas prioritárias visando à efetividade dessas ações.

## 7 CONCLUSÕES

- O município de São Luís ainda consiste em uma área endêmica para a ocorrência da LV em humanos e cães.
- O inquérito amostral encontrou uma frequência de cães soropositivos de 45,8% (87/190) no Distrito Tirirical, São Luís, MA.
- Fatores individuais e biológicos, como sexo, raça, idade, de cães do Distrito Tirirical, São Luís, MA, não foram estatisticamente significativos neste estudo.
- Entre os sinais clínicos avaliados, apenas o estado nutricional caquético foi considerado estatisticamente significativo para os cães deste estudo.
- Dentre as localidades avaliadas no inquérito amostral canino, realizado no Distrito Tirirical, São Luís, MA, o bairro Cidade Operária possuía a maior concentração de cães soropositivos.
- Dentre os cães soropositivos para a LV, 54% eram assintomáticos, gerando uma grande preocupação de importância epidemiológica, pois estes animais funcionam como reservatórios silenciosos do parasito.
- Os distritos Vila Esperança e Tirirical, localizados em São Luís, MA, possuem as maiores ocorrências de casos humanos de LV.
- A partir de 2013, foi observado um aumento na concentração de casos notificados em São Luís, MA, sendo este aumento, possivelmente, ratificado pela interrupção das atividades do órgão responsável pela prevenção e controle dos principais reservatórios.
- É possível inferir que, com a paralisação das atividades de controle e vigilância desta zoonose, existe uma grande quantidade de animais positivos circulantes no Distrito em estudo, funcionando como fonte de infecção tanto para outros cães como para humanos.
- Fica evidente a necessidade de melhorias nas estratégias de vigilância epidemiológica e controle da doença, visando estabelecer ações que sejam direcionadas para cada distrito, principalmente onde o risco de ocorrência é maior, como Vila Esperança nos casos de LVH e Tirirical com os casos de LVH e LVC.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU – SILVA AL, LIMA TB, MACEDO AA, MORAES-JÚNIOR FJ, DIAS EL, BATISTA ZS, CALABRESE KS, MORAES JLP, REBÊLO JMM, GUERRA RMSNC. Soroprevalência, aspectos clínicos e bioquímicos da infecção por *Leishmania* em cães naturalmente infectados e fauna de flebotomíneos em uma área endêmica na ilha de São Luís, Maranhão, Brasil. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 17(1 Suppl):197-203; 2008.

ALMEIDA ABPF, MENDONÇA AJ, SOUSA VRF. Prevalência e epidemiologia da leishmaniose visceral em cães e humanos, na cidade de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. Ciência Rural, 40 (7): 1610-1615; 2010.

ALVAR J, VÉLEZ ID, BERN C, HERRERO M, DESJEUX P, CANO J, BOER MD. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. PLOS ONE, 7 (5): e35671; 2012.

ALVAR J, CAÑAVATE C, MOLINA R, MORENO J, NIETO J. Canine leishmaniasis. Advances in Parasitology, 57: 1-88; 2004.

ALVES LC, FAUSTINO MAG. Leishmaniose visceral canina. Manual da Schering-Plough, São Paulo. 2005. 14 p.

ANDRADE CR, ANDRADE PP. Recombinant *Leishmania* proteins in the diagnosis of human kala-azar. In: BRANDÃO S. editors. Research and Control of Leishmaniasis in Brazil. Recife: FOC/CpqAm, p. 217 – 227; 1995.

ANDRADE PP, ANDRADE CR. Heat shock proteins in visceral leishmaniasis. In: VAN EDEN W, DEKKER M. editors. Stress Proteins in Medicine. 1995.

ANDRADE PP, et al. Assessment of a recombinant *Leishmania* HSP70 ELISA for the serodiagnosis of canine visceral leishmaniasis. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 93; 1998.

BARBOSA DS, ROCHA AL, SANTANA AA, SOUZA CSF, DIAS RA, COSTA-JÚNIOR LV, ABREU-SILVA AL. Soroprevalência e variáveis epidemiológicas associadas à leishmaniose visceral canina em área endêmica no município de São Luís, Maranhão, Brasil. Ciência Animal Brasileira, 11 (3): 653-659; 2010.

BARBOSA DS. Distribuição espacial e definição de áreas prioritárias para vigilância da leishmaniose visceral no município de São Luís, Maranhão, Brasil [Dissertação]. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca; 2011.

BARBOSA R, COSTA ICC. Aspectos clínicos e epidemiológicos da leishmaniose visceral em menores de 15 anos no estado do Rio Grande do Norte, Brasil. *Scientia Medica*, 23(1):5-11, 2013.

BATISTA FMA, MACHADO FFOA, SILVA JMOS, MITTMANN J, BARJA PR, SIMIONI AR. Leishmaniose: perfil epidemiológico dos casos notificados no estado do Piauí entre 2007 e 2011. *Revista Univap*, 20(35): 44-55; 2014.

BAVIA ME, CARNEIRO DD, GURGEL HDA C, MADUREIRA FILHO C, BARBOSA MG. Remote sensing and geographic information systems and risk of American visceral leishmaniasis in Bahia, Brazil. *Parasitology*, 47:165-169; 2005.

BELO VS, STRUCHINER CJ, WERNECK GL, BARBOSA DS, DE OLIVEIRA RB, NETO RG, DA SILVA ES. A systematic review and meta-analysis of the factors associated with *Leishmania infantum* infection in dogs in Brazil. *Veterinary Parasitology*, 195 (1-2): 1-13, 2013.

BELO VS, WERNECK GL, BARBOSA DS, SIMÕES TC, NASCIMENTO BW, DA SILVA ES, STRUCHINER CJ. Factors associated with visceral leishmaniasis in the americas: a systematic review and meta-analysis. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 7(4): e2182; 2013.

BERN C, MAGUIRE JH, ALVAR J. Complexities of assessing the disease burden attributable to leishmaniasis. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 2; 2008.

BIGELI, J. G.; OLIVEIRA JR., W. P.; TELES, N. M. M. Diagnosis of *Leishmania (Leishmania) chagasi* infection in dogs and the relationship with environmental and sanitary aspects in the municipality of Palmas, state of Tocantins, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 45(1): 18-23; 2012.

BOGGIATTO PM, GIBSON-CORLEY KN, METZ K, GALLUP JM, HOSTETTER JM, MULLIN K, PETERSEN CA. Transplacental transmission of *Leishmania infantum* as a means for continued disease incidence in North America. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 5(4): 1-6; 2011.

BOUAZIZI-BEN MESSAOUD H, GUICHARD M, LAWTON P, DELTON I, AZZOUZ-MAACHE S. Changes in Lipid and Fatty Acid Composition During Intramacrophagic Transformation of *Leishmania donovani* Complex Promastigotes into Amastigotes. *Lipids*, 52(5): 433-441; 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde, Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Leishmaniose Visceral no Brasil: situação atual, principais aspectos epidemiológicos, clínicos e medidas de controle. *Boletim Epidemiológico*. Brasília, 6:1-11; 2001.

BRASIL. Fundação Nacional de Saúde. Diretrizes para projetos físicos de unidades de controle de zoonoses e fatores biológicos de risco. Brasília: Funasa, 2003. 44 p.

BRASIL. Ministério da Saúde do Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de vigilância e controle da Leishmaniose visceral. Brasília, DF: Editora MS, 1ª ed. 2006. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

BRASIL. Ministério da Saúde do Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis/Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública. Esclarecimentos sobre substituição do protocolo diagnóstico da leishmaniose visceral canina (LVC). Nota Técnica Conjunta nº 1. Brasília, DF: Editora MS. 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Leishmaniose visceral: recomendações clínicas para redução da letalidade. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2011. 78 p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Leishmaniose visceral. Brasília: Ministério da Saúde, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de Vigilância e Controle de Leishmaniose Visceral. Brasília. 1. ed. 5. reimpressão. 2014. 120 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de vigilância em saúde. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2014. 812 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Fiscalização de Insumos Pecuários. Nota Técnica n.

38/2014/DFIP/SDA. Suspensão da licença de fabricação e comercialização do produto Leishmune – vacina contra leishmaniose visceral canina. 2014.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Manual de recomendações para diagnóstico, tratamento e acompanhamento de pacientes com a coinfeção leishmania-HIV / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – 1. ed., rev. e ampl. – Brasília: Ministério da Saúde, 2015.109p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Situação epidemiológica da leishmaniose visceral: dados. 2015. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/leia-mais-o-ministerio/726-secretaria-svs/vigilancia-de-a-a-z/leishmaniose-visceral-lv/11334-situacao-epidemiologica-dados>>. Acesso em 29 ago 2017.

BRITO FLC, LAUS JL, TAFURI WL, FIGUEREIDO MM, SILVA JÚNIOR VM, MAIA FCL, ALVES LC. Histopathological findings and detection of parasites in the eyes of dogs infected naturally with *Leishmania chagasi*. *Ciência Rural*, 40: 1141-1147; 2010.

CALDAS AJM, SILVA DRC, PEREIRA CCR, NUNES PMS, SILVA BP, SILVA AAM, BARRAL A, COSTA JML. Infecção por *Leishmania (Leishmania) chagasi* em crianças de uma área endêmica de leishmaniose visceral americana na ilha de São Luís – MA. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 34:445-451; 2001.

CAMARGO-NEVES VLF. Leishmaniose Visceral Americana: doença emergente no estado de São Paulo. *Revista Eletrônica de Jornalismo Científico: Com Ciência*. 2005.

CAMPOS R, SANTOS M, TUNON G, CUNHA L, MAGALHÃES L, MORAES J, RAMALHO D, LIMA S, PACHECO JA, LIPSCOM M, JESUS AR, ALMEIDA RP. Visceral leishmaniasis in an endemic area in northeastern Brazil. *Geospatial Health*, 11;12 (1): 503; 2017.

CEPANZO. Centro Panamericano de Zoonosis. Procedimientos para estudios de prevalencia por muestro. Buenos Aires, 1979. 35p. (Nota técnica, 18, rev. 1)

CIARAMELLA P, OLIVA G, LUNA RD, GRADONI L, AMBROSIO R, CORTESE L, SCALONE A, PERSECHINO A. A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *Veterinary Record*, 141(21): 539-43; 1997.

CONITEC. Comissão Nacional de Incorporação de tecnologias do SUS. Proposta de elaboração protocolo clínico e diretrizes terapêuticas: escopo: Leishmaniose Visceral. 2016. 18p.

COSTA CHN, PEREIRA HF, ARAÚJO MV. Epidemia de leishmaniose visceral no estado do Piauí, Brasil, 1980-1986. *Revista de Saúde Pública*, 24(5): 361-372; 1990.

COSTA JML, VIANA GMC, SALDANHA ACR, NASCIMENTO MDSB, ALVIM AC, BURATTINI MN, SILVA AR. Leishmaniose visceral no Estado do Maranhão: a evolução de uma epidemia. *Cadernos de Saúde Pública*, 11: 321-324; 1995.

COSTA AP, COSTA FB, SOARES HS, RAMIREZ DG, ARAUJO AC, FERREIRA JIGS, TONHOLOSO R, DIAS RA, GENNARI SM, MARCILI A. Environmental factors and ecosystems associated with canine visceral leishmaniasis in northeastern Brazil. *Vector-borne and zoonotic diseases*, 15(12):765-774; 2015.

COSTA JUNIOR HNP, CARVALHO HO, SANTOS LS, SILVA MSD, OLIVEIRA KCC, SILVA FM, LARANJEIRA MP, ARAGÃO FBA, SANTOS GRB, SCHMIDT TJB. Relação entre incidência entomológica e notificações da leishmaniose visceral em humanos no período de 2010 a 2015, em São Luís – MA. *Revista UNINGÁ*, 53(1): 56-63, 2017.

COUTINHO ACC, SILVA EL, CALDAS AJM. Análise dos casos e óbitos por Leishmaniose Visceral no Estado do Maranhão, no período de 2000 a 2008. *Revista de Pesquisa em Saúde*, 13 (1): 11-15; 2012.

DANTAS-TORRES F, BRANDAO-FILHO S.P. Geographical expansion of visceral leishmaniasis in the state of Pernambuco. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 39: 352–356; 2006.

DANTAS-TORRES F, BRITO ME, BRANDÃO-FILHO SP. Seroepidemiological survey on canine leishmaniasis among dogs from an urban area of Brazil. *Veterinary Parasitology*, 140: 54-60; 2006.

DIAS EL, BATISTA ZS, GUERRA RMSNC, CALABRESE KS, LIMA TB, ABREU-SILVA AL. Canine Visceral Leishmaniasis (CVL): seroprevalence, clinical, hematological and biochemical findings of dogs naturally infected in an endemic area of São José de Ribamar municipality, Maranhão state, Brazil. *Ciência Animal Brasileira*, 9(3): 740-745; 2008.

DOURADO ZF, SILVA HD, SILVEIRA-LACERDA EP, GARCÍA-ZAPATA MT. Panorama histórico do diagnóstico laboratorial da leishmaniose visceral até o surgimento dos testes imunocromatográficos (rK39). *Revista de Patologia Tropical*, 36 (3): 205-214; 2007.

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

FIGUEREIDO MJFM, SOUZA NF, FIGUEREIDO HF, MENESES AMC, SILVA FILHO E, NASCIMENTO GG. Fatores de risco e classificação clínica associados à soropositividade para leishmaniose visceral canina. *Ciência Animal Brasileira*, 15(1):102-106; 2014.

FRANÇA-SILVA JC, COSTA RT, SIQUEIRA AM, MACHADO-COELHO GLL, COSTA CA, MAYRINK W, VIEIRA EP, COSTA JS, GENNARO O, NASCIMENTO E.. Epidemiology of canine visceral leishmaniasis in the endemic area of Montes Claros municipality, Minas Gerais State, Brazil. *Veterinary Parasitology*, 111:161-173; 2003.

FRASER CM. Manual Merck de Veterinária: um manual de diagnóstico, tratamento, prevenção e controle de doenças para veterinária. 9. ed. São Paulo: Roca, 2008, p. 543-544.

GALVÃO ACA. Diagnóstico de situação epidemiológica da leishmaniose visceral canina em Rio Verde, GO. [tese]. São Paulo: Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias; 2016.

GARCIA FAI, MARCONDES M. Métodos de diagnóstico da leishmaniose visceral canina. *Revista Clínica Veterinária*, 71: 34-42; 2007.

GIL ES, KUBOTA LT, YAMAMOTO YI. Alguns aspectos de imunoensaios aplicados à química analítica. *Química Nova*, 22(6):874-881; 1999.

GLÓRIA MRB. Leishmaniose visceral: situação epidemiológica e distribuição especial, município de Palmas, Tocantins. [dissertação]. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz; 2006.

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

GUIMARÃES KS, BATISTA ZS, DIAS EL, GUERRA RM, COSTA AD, OLIVEIRA AS, CALABRESE KS, CARDOSO FO, SOUZA CS, DO VALE TZ, GONÇALVES DA COSTA SC, ABREU-SILVA AL. Canine visceral leishmaniasis in São José de Ribamar, Maranhão State, Brazil. *Veterinary Parasitology*, 131:305-309; 2005.

HARHAY MO, OLLIARO PL, COSTA DL, COSTA CH. Urban parasitology: visceral leishmaniasis in Brazil. *Trends in Parasitology*, 27: 403-9; 2011.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Cidades@. 2018. Disponível em: <<http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?codmun=211130>>. Acesso em: 01 fev. 2018.

JULIÃO FS, SOUZA BMPS, FREITAS DS, OLIVEIRA LS, LARANGEIRA DF, DIAS-LIMA AG, SOUZA VMM, BARROUIN-MELO SM, MOREIRA Jr ED, PAULE BJA, FRANKE CR. Investigação de áreas de risco como metodologia complementar ao controle da leishmaniose visceral canina. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 27 (8): 319-324; 2007.

KOUTINAS, A.F. et al. Clinical considerations on canine visceral leishmaniasis in Greece: a retrospective study of 158 cases (1989-1996). *Journal of the American Animal Hospital Association*, 35 (5):376-383; 1999.

LAINSON R, RANGEL EF. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil: a review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 100(8): 811-827; 2005.

LAINSON R. The Neotropical *Leishmania* species: a brief historical review of their discovery, ecology and taxonomy. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*,1(2): 13-32; 2010.

MADALOSSO G, FORTALEZA CM, RIBEIRO AF, CRUZ LL, NOGUEIRA PA, LINDOSO JALL. American visceral leishmaniasis: factors associated with lethality in the state of São Paulo, Brazil. *Journal of Tropical Medicine*, 2012: 7; 2012.

MALMASI A, JANITABAR S, MOHEBALI M, AKHOUNDI B. Seroepidemiologic survey of canine visceral leishmaniasis in Tehran and Alborz Provinces of Iran. *Journal Arthropod Borne Diseases*, 8:132-138; 2014.

MANCIANTI F, GRAMICCIA M, GRADONI L, PIERI S. Studies on canine leishmaniasis control. 1. Evolution of infection of different clinical forms of canine leishmaniasis following antimonial treatment. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 82 (4): 566-567; 1988.

MANZILLO VF, DI MUCCIO T, CAPPUELO S, SCALONE A, PAPPARCONI R, FIORETINO E, GIZZARELLI, GRAMICCIA M, GRANDONI L, OLIVA G. Prospective Study on the Incidence and Progression of Clinical Signs in Naïve Dogs Naturally Infected by *Leishmania infantum*. PLOS Neglected Tropical Diseases, 7(5): e2225, 2013.

MARCONDES M, ROSSI CN. Leishmaniose visceral no Brasil. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, 50(5): 341-352; 2013.

MARGONARI C, FREITAS CR, RIBEIRO RC, MOURA, ACM, TIMBO M, GRIPP AH, PESSANHA J E, DIAS ES. Epidemiology of visceral leishmaniasis through spatial analysis, in Belo Horizonte 78 municipality, state of Minas Gerais, Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 101(1):31-38; 2006.

MARINHO CP, SOUZA IM, XAVIER MEB, DOURISBOURE CJ, BRAZ PH. Achado citopatológico de formas amastigota de *Leishmania* spp. na língua de um canino: Relato de caso. Pubvet, 11(11):1104-1107; 2017.

MEDEIROS CFO, MELO AGC, LIMA AKF, SILVA ING, OLIVEIRA LC, SILVA MC. Perfil hematológico de cães com leishmaniose visceral no município de Fortaleza, Ceará. Ciência Animal, 18(1): 33-40; 2008.

MENDES SW. Expansão espacial da Leishmaniose visceral Americana em São Luís do Maranhão, Brasil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 35: 227-231; 2002.

MISSAWA NA, VELOSO MAE, MACIEL GBML, MICHALSKY EM, DIAS ES. Evidência de transmissão de leishmaniose visceral por *Lutzomyia cruzi* no município de Jaciara, Estado de Mato Grosso, Brasil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 44(1): 76-78; 2011.

MIRANDA S, ROURA X, PICADO A, FERRER L, RAMIS A. Characterization of sex, age, and breed for a population of canine leishmaniosis diseased dogs. Research in Veterinary Science, 85(1):35-38; 2008.

MONTALVO AM, FRAGA J, MONZOTE L, GARCÍA M, FONSECA L. Diagnóstico de la leishmaniasis: de la observación microscópica del parásito a la detección del ADN. Revista Cubana de Medicina Tropical, 64 (2):108-131; 2012.

MONTEIRO EM, SILVA JCF, COSTA, RT, COSTA DC, BARATA RA, PAULA EV, MACHADO-COELHO GLL, ROCHA MF, FORTES-DIAS CL, DIAS ES. Leishmaniose

visceral: estudo de flebotomíneos e infecção canina em Montes Claros, Minas Gerais. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 38(2):147-152; 2005.

MORKAWA VM, PINTO MC, BIONDO AW. O papel da Unidade de Vigilância em Zoonoses (UVZ) na integração da saúde com o meio ambiente. [publicação online]. *Revista Clínica Veterinária*, XXI(121):24-28; 2016. [acesso em 21 fev 2018] Disponível em <http://www.revistaclinicaveterinaria.com.br/blog/o-papel-da-unidade-de-vigilancia-em-zoonoses-uvz-na-integracao-da-saude-com-o-meio-ambiente/>

NASCIMENTO MDSB, BEZERRA FA, GONÇALVES FILHO MS, CARVALHO LCP. Leishmaniose visceral humana: observações preliminares sobre a infecção subclínica em área endêmica de São Luís- Maranhão. *Cadernos de Pesquisa*, 7:5-17; 1991.

NASCIMENTO MDSB, BANDEIRA KT; BEZERRA GF, AHID S, FIORI BIP, GONÇALVES FILHO, MS, ALVIM, MC, PARANHOS MS, CARVALHO LCP, BURATTINI, MN, SHAW, JJ. Isolamento de Leishmaniose de cão em São Luís - Maranhão, Brasil. *Cadernos de Pesquisa*, 8:75-84; 1992.

NASCIMENTO MDSB, COSTA JML, FIORI BIP, VIANA GMC, FILHO MSG, ALVIM AC, BASTOS COM NAKATANI M, REED S, SILVA AR, BURATTINI MN. Aspectos epidemiológicos determinantes na manutenção da leishmaniose visceral no Estado do Maranhão - Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 29: 233-240; 1996.

NAUCKE TJ, LORENTZ S. First report of venereal and vertical transmission of canine leishmaniosis from naturally infected dogs in Germany. *Parasites & Vectors*, 5: 67; 2012.

NOGUEIRA, J. L.; SILVA, M.V.M.; PASSOS, C. C.; AMBRÓSIO, C. E. A importância da leishmaniose visceral canina para a saúde pública: uma zoonose reemergente. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, 13; 2009.

NUNES VLB, GALATI EAB, CARDOZO C, ROCCA MEG, ANDRADE ARO, SANTOS MFC, AQUINO RB, ROSA D. Estudo de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em área urbana do município de Bonito, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia*, 52 (3): 446-451; 2008.

OLIVEIRA AC, ABREU-SILVA AL, LIMA TB, SILVA APC, REIS LF, BARBOSA DS, GUERRA RMSNC. Soroprevalência da leishmaniose visceral canina no bairro Jardim São Raimundo em São Luís. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 1: 140-143; 2006.

OLIVEIRA JM, FERNANDES AC, DORVAL MEC, ALVES TP, FERNANDES TD, OSHIRO ET, OLIVEIRA ALL. Mortality due to visceral leishmaniasis: clinical and laboratory characteristics. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 43:188–193; 2010.

ORGANIZAÇÃO PAN AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). Leishmanioses. Informe Epidemiológico nas Américas. Organização Pan Americana da Saúde, Organização Mundial de Saúde, Informe Leishmaniose, 3; 2015.

PALTRINIERI S, SOLANO-GALLEGO L, FONDATI A, LUBAS G, GRADONI L, CASTAGNO M, CROTTI A, MAROLI M, OLIVA G, ROURA X, ZATELLI A, ZINI E. Guidelines for diagnosis and clinical classification of leishmaniasis in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 36(11): 1184-1191; 2010.

PEÑA MT, ROURA X, DAVIDSON MG. Ocular and periocular manifestations of leishmaniasis in dogs: 105 cases (1993-1998). *Veterinary Ophthalmology*, 3: 35-41; 2000.

PINTO L, VARGAS E. “*Leishmania*” reflexões sobre o manejo do mundo em contextos de risco sanitário. *Revista Antropologia*, 49: 121-134; 2017.

QUEIROZ IM, SANTOS ESC, ANDRADE PP. Aumento e estabilidade da expressão de proteínas recombinantes de *L. chagasi* e *T. cruzi* para fins de produção industrial em vetores plasmidiais. *Brazilian Journal of Genetics*, 20, suppl III, 194; 1997.

RANGEL EF, LAINSON R. Flebotomíneos do Brasil. Rio de Janeiro: FIOCRUZ; 2003. p.13-14

REICHMANN MLAB, PINTO HBF, NUNES VFP. Vacinação contra raiva de cães e gatos. 1999; São Paulo: Instituto Pasteur (Manuais, 3).

REICHMANN MLAB. Orientação para projetos de Centros de Controle de Zoonoses (CCZ). 2.ed. São Paulo, Instituto Pasteur, 2000 (Manuais, 2) 45p.

RIBEIRO VM. Leishmanioses. *Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária*, (11): 13-14; 1997.

RIBEIRO RR, DA SILVA SM, FULGÊNCIO G DE O, MICHALICK MS, FRÉZARD FJ. Relationship between clinical and pathological signs and severity of canine leishmaniasis. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 22(3):373-378; 2013.

ROQUE ALR, JANSEN AM. Wild and synanthropic reservoirs of *Leishmania* species in the Americas. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 3(3): 251–262; 2017.

ROZE M. Canine leishmaniasis. A spreading disease. Diagnosis and treatment. *European Journal of Companion Animal Practice*, 15(1):39-52; 2005.

SAKKAS H, GARTZONIKA C, LEVIDIOTOU S. Laboratory diagnosis of human visceral leishmaniasis. *Journal of Vector Borne Diseases*, 53:8–16; 2016.

SALZO P S. Aspectos dermatológicos da leishmaniose canina. *Nosso Clínico*, 11: 30-34; 2008.

SANTA ROSA ICA, OLIVEIRA ICS. Leishmaniose Visceral: breve revisão sobre uma zoonose reemergente. *Clínica Veterinária*, (11): 24-28; 1997.

SANTOS ESC, ANDRADE PP, MENZ I, QUEIROZ IM. Discriminação sorológica entre animais infectados e vacinados pela vacina Leishmune® com o kit ELISA/S7 - Biogene®. *Revista de Patologia Tropical*, 6, suppl 2; 2007.

SANTOS SO, ARIAS J, RIBEIRO AA, DE PAIVA HOFFMANN M, DE FREITAS RA, MALACCO MA. Incrimination of *Lutzomyia cruzi* as a vector of American visceral leishmaniasis. *Medical and Veterinary Entomology*, 12(3): 315-317; 1998.

SCHALLIG HD, SCHOONE GJ, BEIJER EG, KROON CC, HOMMERS M, OZBEL Y, OZENSOY S, DA SILVA ES, CARDOSO LM, DA SILVA ED. Development of a fast agglutination screening test (FAST) for the detection of anti-*Leishmania* antibodies in dogs. *Veterinary Parasitology*, 16(109):1-8; 2002.

SCHIMMING BC, PINTO E SILVA JRC. Leishmaniose visceral canina. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, x(19); 2012.

SEIXAS MM, MAGALHÃES JUNIOR JT, FRANKE CR, BARROUIN-MELO SM. Positividade para leishmaniose visceral canina: existem fatores caninos que contribuem? *Revista Baiana Saúde Pública*, 36(2):358-367; 2012.

SEMUS. Secretária Municipal de Saúde. Distritos Sanitários de São Luís, MA. Disponível em: <<http://www.saoluis.ma.gov.br/semus>>. Acesso em: 10 jan. 2016.

SILVA KV, MENDONÇA VRR, SILVA KM, NASCIMENTO LFM, MENDES-SOUSA AF, PINHO FA, BARRAL-NETTO M, BARRAL AMP, CRUZ MSP. Scoring clinical signs can help diagnose canine visceral leishmaniasis in a highly endemic area in Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 112(1): 53-63; 2017.

SILVA RBS, MENDES RS, SANTANA VL, SOUZA HC, RAMOS CPS, SOUZA AP, ANDRADE PP, MELO MA. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral canina na zona rural do semiárido paraibano e análise de técnicas de diagnóstico. Pesquisa Veterinária Brasileira, 36 (7): 625-629; 2016.

SILVA AR, TAUIL PL, CAVALCANTE MNS, MEDEIROS MN, PIRES BN, GONÇALVES EGR. Situação epidemiológica da leishmaniose visceral, na Ilha de São Luís, Estado do Maranhão. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 41(4): 358-364; 2008.

SILVA AR, COSTA JM, MOCHEL A, CARNEIRO EWB, BRASIL R. Leishmaniose visceral na Ilha de São Luís, Estado do Maranhão. I. Aspectos clínicos e terapêuticos. In: Resumos do XIX Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Rio de Janeiro, 1983. p.65.

SILVA AR, VIANA GMC, VARONIL C, PIRES B, NASCIMENTO MDSD, COSTA JML. Leishmaniose visceral (calazar) na ilha de São Luís, Maranhão, Brasil: evolução e perspectivas. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 30(5): 359-368; 1997.

SILVA AVM, PAULA AA, CABRERA MAA, CARREIRA JC. A. Leishmaniose em cães domésticos: aspectos epidemiológicos. Cadernos de Saúde Pública, 21(1): 324- 328; 2005.

SILVA DA, PERIÉ CS, MUNDES Jr AAV, MADEIRA MF, FIGUEIRO FB. Leishmaniose visceral canina em Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro – Relato de caso. Revista Clínica Veterinária, 95:65-68; 2011.

SILVEIRA NETO OJ. Optimization of PCR for specific detection of *Leishmania chagasi* [dissertação] Goiânia: Universidade Federal de Goiás, 2010.

SONODA MC. Leishmaniose visceral canina: aspectos clínico epidemiológicos de casos atendidos no período de 1997 a 2007, no Hospital da faculdade de Medicina Veterinária e

Zootecnia da Universidade de São Paulo. [Dissertação] São Paulo: Programa de Pós-graduação: Clínica Veterinária, 2007.

TOSCANO CP, ROSSI CN, RIBEIRO VM, LAURENTI MD, LARSSON CE.  
Caracterização clínica e epidemiológica das leishmanioses em cães no Estado de São Paulo. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 50(2): 121-128; 2013.

TROTZ-WILLIAMS L, GRADONI L.. Disease risks for the travelling pet: Leishmaniasis, In *Practice*. 2003; 25, 190-197.

VIGILATO MAN. Distribuição espacial da leishmaniose visceral canina e humana no município de Birigui – SP. [dissertação] Botucatu: Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2004.

WERNECK GL. Forum: geographic spread and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. Introduction. *Cadernos de Saúde Publica*, 24:2937–2940; 2008.

WERNECK GL. Geographic spread of visceral leishmaniasis in Brazil. *Cadernos de Saúde Publica*, 26:644–645; 2010.

WERNECK GL. Visceral leishmaniasis in Brazil: rationale and concerns related to reservoir control. *Revista de Saúde Pública*, 48: 851-855; 2014.

WERNECK GL. Controle da leishmaniose visceral no Brasil: o fim de um ciclo? *Cadernos de Saúde Publica*, 32(6):eED010616; 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Guidelines for dog population management. Geneva; 1990.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Leishmaniasis. 2015. Disponível em: <<http://www.who.int/leishmaniasis/burden/en/>>. Acesso em: 13 Fev. 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Global leishmaniasis update, 2006–2015: a turning point in leishmaniasis surveillance. *Weekly Epidemiological Record*, No 38, 2017.

**ANEXO A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

O Sr. (a) está sendo convidado (a) a autorizar a participação de seu(s) animal(is) na pesquisa de mestrado intitulada “**Avaliação da prevalência da leishmaniose visceral canina no município de São Luís, após descontinuidade do programa de controle de zoonoses**”, que tem por objetivo detectar os casos de leishmaniose visceral canina em São Luís.

Ao participar deste estudo o Sr. (a) permitirá que o (a) pesquisador (a) colete amostras sanguíneas, de medula óssea e linfonodo do seu (s) animal (is), e depois de consentir sua participação se o Sr. (a) desistir de continuar participando, tem o direito e a liberdade de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, seja antes ou depois da coleta de dados, independente do motivo e sem nenhum prejuízo a sua pessoa e animal.

O Sr. (a) não terá nenhuma despesa para participar desta pesquisa (diagnóstico do seu animal) e não receberá nenhuma remuneração.

Os resultados da pesquisa serão analisados e publicados, mas sua identidade não será divulgada, sendo guardada em sigilo.

Esperamos que este estudo traga contribuições importantes, como a atual prevalência do zoonose em seu distrito, a redução ou eliminação da probabilidade de que os cães domésticos atuem como reservatórios de transmissão a outros cães e, principalmente, aos seres humanos.

Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para participar desta pesquisa. Portanto preencha, por favor, os itens que se seguem:

Eu, \_\_\_\_\_, portador de RG/CPF nº \_\_\_\_\_, telefone \_\_\_\_\_, residente à \_\_\_\_\_, e-mail \_\_\_\_\_ proprietário/responsável pelo (s) animal (is) \_\_\_\_\_, raça \_\_\_\_\_, sexo \_\_\_\_\_, autorizo a utilizar o animal como sujeito de pesquisa para fins científicos.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Proprietário

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

## ANEXO B – FICHA CLÍNICA

<b>FICHA CLÍNICA</b>	
Data: **	Proximidade da moradia com a mata: ( ) Sim ( ) Não** Vacinado contra o calazar: ( ) sim ( ) não**
Animal:	Sexo: ( ) F ( ) M
Raça:	Peso (Kg):**
Idade:	Cor: **
<p><b>Sinais gerais</b></p> <p><u>Condição geral</u> ( ) Ativo = 0 ( ) Apático = 1</p> <p><u>Ectoparasitas</u> ( ) Ausência = 0 ( ) Pulgas = 1 ( ) Pulgas e Carrapatos = 2</p> <p><u>Estado nutricional</u> ( ) Normal = 0 ( ) Magro = 1 ( ) Caquético = 2</p> <p><u>Linfonodos</u> ( ) Normal = 0 ( ) Aumentados = 1</p> <p><u>Coloração das mucosas</u> ( ) Normal = 0 ( ) Pálidas = 1</p> <p><u>Hemorragia externa</u> ( ) Ausente = 0 ( ) Presença = 1</p>	
<p><b>Sinais cutâneos</b></p> <p><u>Pelagem</u> ( ) Bom = 0 ( ) Regular = 1 ( ) Ruim = 2</p> <p><u>Lesão no focinho/ orelha</u> ( ) Ausente = 0 ( ) Presença = 1</p> <p><u>Unhas</u> ( ) Normal = 0 ( ) Aumentadas/Onicogribose = 1</p> <p><u>Ferimentos externos no corpo</u> ( ) Ausente = 0 ( ) Presença = 1 ( ) Úlcera = 2</p> <p><u>Despigmentação Do Focinho</u> ( ) Ausente = 0 ( ) Presença = 1</p> <p><u>Alopecia</u> ( ) Ausente = 0 ( ) Presença = 1</p>	
<p><b>Sinais oculares</b></p> <p><u>Secreção Ocular</u> ( ) Ausente = 0 ( ) Serosa = 1 ( ) Mucopurulenta = 2</p> <p><u>Blefarite</u> ( ) Ausente = 0 ( ) Presença = 1</p>	
**OBS :	

\*\* adaptações na ficha clínica utilizada por Silva et al. (2017)

**ANEXO C – DECLARAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA E EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL**

UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DO  
MARANHÃO

Centro de Ciências Agrárias  
Curso de Medicina Veterinária  
Comissão de Ética e Experimentação Animal (CEEA)  
Credenciamento Provisório - CONCEA/MCT  
Processo 01200.002200/2015-06 (449) - Emissão 19/06/2015

**DECLARAÇÃO**

Declaramos para devidos fins que o projeto intitulado **“Desenvolvimento de sistemas rápidos, sensíveis e específicos para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina”** foi aprovado pela Comissão de Ética e Experimentação Animal - CEEA do Curso de Medicina Veterinária da UEMA, conforme protocolo nº 30/2015 aprovado em 26/06/2017, para a execução da pesquisa pela equipe coordenada pela Profª. Dra. Ana Lúcia Abreu Silva e os membros Raniely Araújo Nogueira e Maria Gabriela Sampaio Lira por atender as normas de Bem Estar Animal da Resolução do CFMV nº 1000/2012 e a Lei 11.794/2008.

São Luís, 04 de julho de 2017

Profª. Dra. Alana Lislea de Sousa  
Presidente do CEEA/CMV/UEMA

**ANEXO D – PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA E EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL**
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
COMISSÃO DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL**

 Credenciamento Provisório - CONCEA/MCT  
 Processo 01200.002200/2015-06 - 19/06/2015
PARECER DE APROVAÇÃO

DATA DA ENTRADA DO PROTOCOLO	NÚMERO DO PROTOCOLO	DATA DA APROVAÇÃO
14/ 10/ 2015	30/2015	26/ 06/ 2017

**TÍTULO DO PROJETO**

Desenvolvimento de sistemas rápidos, sensíveis e específicos para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina

**LOCAL DA EXECUÇÃO (IES/Laboratório)**

Laboratório de Anatomopatologia

**OBJETIVO**

Verificar a soroprevalência para leishmaniose visceral canina em São Luís – MA, bem como potencial diagnóstico sorológico dos antígenos recombinantes LiP2a, LiP2b, LiP0, HSP83 e H2A quanto a sensibilidade e especificidade para doença

**ESPÉCIE ANIMAL/RAÇA**

Cão

**CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA AUTORIZADA**

200 cães divididos em 4 grupos (Cães domiciliados dos bairros São Cristovão, Jardim América, Cidade Operária e Cidade Olímpica)

**PERÍODO DE EXECUÇÃO DA PESQUISA**

03/2016 a 03/2018

**PESQUISADOR RESPONSÁVEL/EXECUTOR**

Raniely Araújo Nogueira e Maria Gabriela Sampaio Lira (Orientadora: Profa. Dra. Ana Lúcia Abreu Silva)

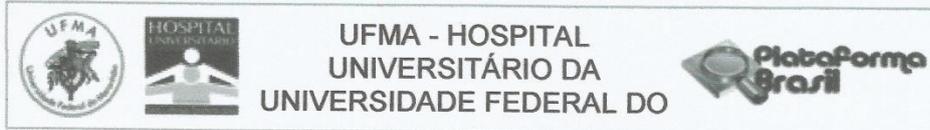
**EQUIPE/COLABORADORES**

Não possui colaboradores

*Aerona*  
\_\_\_\_\_  
Presidente da Comissão

4 / 7 / 20 17

## ANEXO E – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP



UFMA - HOSPITAL  
UNIVERSITÁRIO DA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO

Plataforma  
Brasil

### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Avaliação da prevalência de leishmaniose visceral canina e humana no município de São Luís-MA.

**Pesquisador:** RANIELLY ARAUJO NOGUEIRA

**Área Temática:**

**Versão:** 4

**CAAE:** 73374017.0.0000.5086

**Instituição Proponente:** Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS)

**Patrocinador Principal:** MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.453.899

#### Apresentação do Projeto:

##### Introdução

A Leishmaniose Visceral (LV) é uma doença infecciosa de caráter crônico, causada por protozoários da família Trypanosomatidae, do gênero Leishmania (NOGUEIRA et al., 2009). No Brasil, o agente etiológico é a espécie Leishmania (Leishmania) chagasi e sua transmissão ocorre, principalmente, pela picada de fêmeas de flebotomíneos da espécie Lutzomyia longipalpis (LUTZ; NEIVA, 1912; BRASIL, 2006). Os cães domésticos (Canis familiaris) são considerados os principais reservatórios do protozoário e a principal fonte de infecção para o homem (MARCONDES; ROSSI, 2013). Estes protozoários são transmitidos em sua forma flagelada, promastigota, através da picada. Quando inoculados na pele dos hospedeiros, estas formas flageladas são absorvidas pelos macrófagos, nos quais se transformam em formas amastigotas (sem flagelo). Nos macrófagos, as amastigotas se dividem e disseminam-se em diferentes órgãos, principalmente nos linfonodos, baço e medula óssea (RIBEIRO, 1997; FRASER, 2008). As manifestações clínicas da doença são variadas e incluem entre outros sintomas a linfadenopatia, alopecia, lesões de pele, onicogrifose, perda de apetite ocasionando o emagrecimento, entre outros sintomas. Porém alguns animais podem permanecer clinicamente saudáveis ou exibir a sintomatologia característica apenas nos estágios finais da doença (TESH, 1995). Sendo assim o diagnóstico da LV é realizado através de exames clínicos e laboratoriais. As técnicas sorológicas são consideradas ferramentas importantes e utilizadas comumente para o

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

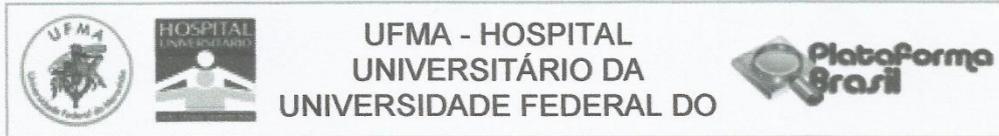
CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

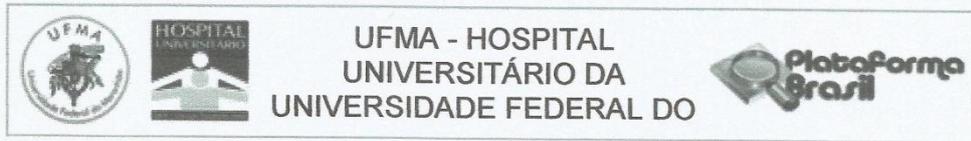
E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 2.453.899

diagnóstico (SILVEIRA, 2010), entre elas a imunofluorescência indireta (IFA), o teste de aglutinação direta (DAT) e ensaio imunoenzimático (ELISA). Porém outras técnicas também são utilizadas, como a imunohistoquímica, o isolamento do parasita em cultura e reação em cadeia polimerase (PCR) (OLIVEIRA et al., 2015). No entanto, ainda não há um método diagnóstico com 100% de sensibilidade e especificidade para a doença (GONTIJO E MELO, 2004). Os métodos de controle e prevenção da leishmaniose devem contar com medidas que incidam sobre os vetores (inseticidas, mosquiteiros) e os principais reservatórios, como o diagnóstico e tratamento precoce dos cães sororreagentes, a fim de evitar o óbito deste animal ou que ele seja fonte de infecção para outro hospedeiro mamífero. Infelizmente, ainda não existem tratamentos profiláticos eficientes para cães infectados, nem vacinas contra a LV humana e as vacinas caninas não demonstram eficácia em campo (GONTIJO E MELO, 2004). A leishmaniose visceral é considerada um problema de saúde pública mundial, devido a fatores como sua ampla distribuição geográfica, alta incidência e formas clínicas severas (SCHALLIG et al., 2002). A LV ocorre em 98 países, sendo a Índia, Bangladesh, Sudão, Sudão do Sul, Etiópia e Brasil os responsáveis por mais de 90% dos casos (ALVAR et al., 2012). Estima-se que 200.000 a 400.000 novos casos ocorram por ano no mundo, com uma taxa de mortalidade de 10% (WHO, 2014). Inicialmente, a doença era considerada como endêmica de zona rural, porém a partir da década de 1980, através de estudos de casos humanos e caninos observou-se a expansão e urbanização da LV em várias cidades brasileiras de médio e grande porte (WERNECK, 2008). O primeiro surto urbano de LV foi relatado em Teresina (PI), com 900 casos entre os anos de 1981 a 1985 (COSTA et al., 1990). Após duas décadas deste primeiro registro em zona urbana, a zoonose expandiu e intensificou-se a outras cidades de diferentes regiões do país, como São Luís, Natal, Aracaju, Boa Vista, Santarém, Belo Horizonte, Montes Claros, Cuiabá e Campo Grande (BRASIL, 2001; WERNECK, 2014). Hoje, a doença é registrada em 26 das 27 unidades federadas (BRASIL, 2014; WERNECK, 2014), sendo a região Nordeste destaque por apresentar os maiores índices de incidência (ALVES E FAUSTINO, 2005; CAMARGO-NEVES, 2005). De acordo com os dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), nos últimos sete anos (2007 a 2013) foram notificados 24.057 casos de LV, com média de 3.436 casos/ano, sendo 11.816 casos (49,1%) pertencentes a esta região (BARBOSA, 2014), com destaque para os estados do Piauí, Maranhão, Bahia e Ceará (BAVIA et al., 2005), devido a fatores como as condições geográficas, sobretudo climáticas representadas pela alta pluviosidade, que favorece biologicamente os criadouros de flebotomíneos (SILVA et al., 1997). O estabelecimento da LV como epidemia no Maranhão ocorreu a partir de 1982, sendo primeiramente relatada no Distrito Tirirical, na cidade

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227  
 Bairro: CENTRO CEP: 65.020-070  
 UF: MA Município: SAO LUIS  
 Telefone: (98)2109-1250 E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 2.453.899

de São Luís, com o registro de 1.089 casos em quinze anos (ABREU-SILVA et al., 2008; BARBOSA et al., 2010; MENDES et al., 2002). As leishmanioses são atualmente um dos maiores problemas de saúde pública na ilha de São Luís, sendo reportados casos de leishmaniose visceral canina (LVC) e humana (LVH) nos quatro municípios pertencentes a ela (DIAS et al., 2008). Mesmo com as intervenções do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) por anos, agora Unidade de Vigilância em Zoonoses- UVZ, com estratégias de controle e prevenção, a prevalência da doença atingiu 51,61% na Vila Bom Viver, município de Raposa (ABREUSILVA et al., 2008) e no último levantamento epidemiológico foram analisados 100 cães oriundos do distrito Tirirical, município de São Luís, na qual foi constatado 67% de cães infectados com *Leishmania* spp., indicando uma elevada incidência de cães atuando como reservatório (BARBOSA, 2010). Desta maneira, o trabalho tem por objetivo determinar a atual prevalência da zoonose no Distrito Tirirical e a realização de uma análise longitudinal da leishmaniose visceral no município de São Luís.

**Hipótese:**

Com a interrupção das atividades do Centro de Controle de Zoonose de São Luís houve um aumento no número de casos caninos e humanos.

**Metodologia Proposta:**

A área de estudo será o município de São Luís, localizado na região norte do Estado do Maranhão, com área de 834,79 km<sup>2</sup> (IBGE, 2010). De acordo com critérios administrativos e de planejamento da Secretaria Municipal de Saúde o município é dividido em sete distritos sanitários: Itaqui-Bacanga, Centro, Tirirical, Vila Esperança, Cohab, Bequimão e coroadinho. Portanto, o presente estudo será realizado no Distrito do Tirirical. A amostragem foi realizada conforme estabelecido pelo Centro Panamericano de Zoonoses (1979) para estudo de estimativa de prevalência. Considerando a prevalência esperada de 67%, correspondente ao resultado obtido por Barbosa et al. (2010), erro de 10% e grau de confiança de 95 % ( $z = 1,96$ ), obteve-se um  $n = 189$  amostras, onde optou-se elevar para 200 animais, para a constituição de uma amostragem homogênea. Para a avaliação clínica e laboratorial dos cães, os proprietários serão informados dos objetivos do projeto e solicitado sua concordância através da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE. O exame clínico será realizado através do preenchimento da ficha clínica, onde

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

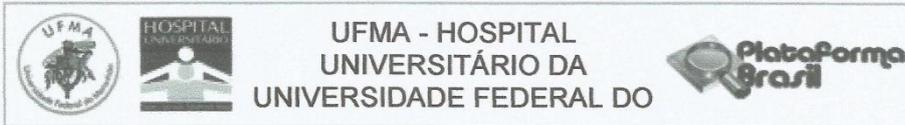
UF: MA

Telefone: (98)2109-1250

Município: SAO LUIS

CEP: 65.020-070

E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 2.453.899

estarão descrito 14 sinais clínicos da doença, que serão registrados de acordo com a sua gravidade. Após a avaliação clínica serão coletados 5 mL de sangue, obtido por punção venosa, realizada com o uso de seringas estéreis. Este volume será armazenado em tubo sem anticoagulante e encaminhado para o Laboratório de Anatomopatologia da Universidade Estadual do Maranhão para o processo de centrifugação a 1.500 rpm, durante 10 minutos, para a obtenção do soro. Este soro será armazenado em Eppendorfs® e acondicionado a - 20 °C, para a realização do teste ELISA. A pesquisa dos casos caninos e humanos registrados e notificados, respectivamente, em São Luís - MA, será realizada entre 2005 a 2017, afim de analisar os maiores períodos de prevalência, relacionando a critérios como localidade, raça, idade, nível de escolaridade e entre outros parâmetros.

**Critério de Exclusão:**

Inquérito amostral canino: Cães errantes; cães domiciliados com menos de 6 meses de idade; cães não pertencentes ao Distrito Tirirical; Análise dos Casos humanos e caninos registrados: casos que foram notificados antes de 2005.

**Metodologia de Análise de Dados:**

Com os resultados clínicos e laboratoriais, os animais serão classificados em sintomáticos, quando os exames laboratoriais estiverem positivos e seu escore for 4; assintomáticos, exames laboratoriais positivos e escore de 0 a 3; e saudáveis, diagnóstico negativo para leishmaniose. Os dados obtidos de Leishmaniose visceral canina e humana serão agrupados e analisados por estudo ou correlação, teste qui-quadrado, análise de variância, teste de significância: teste T não-pareado e teste Turkey. As análises serão realizadas no programa GraphPad Prism (versão 7.0) e os resultados serão considerados estaticamente significativos quando  $p < 0,05$ .

**Desfecho Primário:**

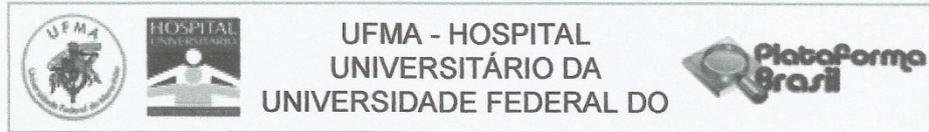
Determinar se houve ou não interferência na prevalência da doença com a paralisação do Centro de Controle de Zoonoses.

**Desfecho Secundário:**

Estimar a soroprevalência de cães positivos para a leishmaniose visceral. Tamanho da Amostra no Brasil: 200

Haverá uso de fontes secundárias de dados (prontuários, dados demográficos, etc)?

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227  
 Bairro: CENTRO CEP: 65.020-070  
 UF: MA Município: SAO LUIS  
 Telefone: (98)2109-1250 E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 2.453.899

Sim

Detalhamento:

Serão utilizadas fontes secundárias (número de cães e humanos positivos para a zoonose, escolaridade, localidade, idade etc.) da Secretaria de Saúde do município de São Luís-MA.

Propõe dispensa do TCLE? Sim

Justificativa:

Para a análise dos dados obtidos pela SEMUS dispensa-se o uso do TCLE.

Haverá retenção de amostras para armazenamento em banco? Não

**Objetivo da Pesquisa:**

- Objetivo Primário:

\*Avaliar os casos de leishmaniose visceral canina e humana em São Luís - MA, após a interrupção do programa de controle de zoonoses.

- Objetivo Secundário:

\*Avaliar o perfil clínico dos cães;

\*Determinar a soroprevalência da leishmaniose visceral canina no Distrito Tiririçal, após a descontinuidade do programa de controle de zoonoses.

\*Identificar as áreas de maior prevalência de leishmaniose visceral canina;

\*Avaliar os casos caninos de leishmaniose visceral registrados pelo Centro de Controle de Zoonose de São Luís, MA, entre 2007 a 2016;

\*Comparar os números de casos notificados de leishmaniose visceral humana em São Luís, MA, no período de 2007 a 2016.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos:

O pesquisador relatou como risco "não consegui inferir a prevalência por não atingir o tamanho da amostra pré-determinada no estudo e, dessa forma, não será possível alertar a população sobre a endemidade da zoonose na região. A não liberação dos dados registrados de leishmaniose visceral canina ou a não existência dos mesmos. É importante destacar que não haverá risco

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

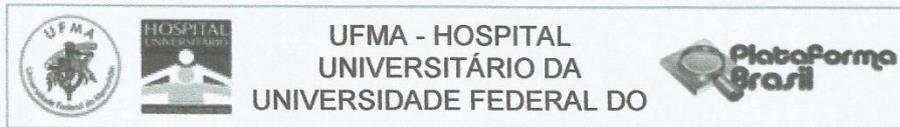
CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 2.453.899

quanto a quebra de sigilo e confidencialidade quanto aos dados coletados no SINAN, pois não serão acessados prontuários, nem coletadas informações pessoais, como nome, endereço e telefone. Os riscos envolvidos na pesquisa podem estar relacionados aos resultados obtidos do SINAN, na qual haverá uma classificação de quais bairros, sexo, raça e condição socioeconômica está mais concentrada a ocorrência de casos da doença na cidade de São Luís, para que não ocorra o desconforto e constrangimento para essas classes, quando os dados forem compilados, estes dados serão cuidadosamente elaborados, utilizando-se uma linguagem adequada para sua apresentação, além da sugestão de medidas preventivas e educativas para os órgãos de saúde para que possam ser implantadas nestas localidades de maior ocorrência".

#### Benefícios

O pesquisador relatou como benefício "Oferecer o diagnóstico de cães domiciliados em bairros periféricos. Fazer uma análise da endemicidade da zoonose nos últimos dez anos. Sensibilização dos proprietários sobre a profilaxia do calazar".

#### Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

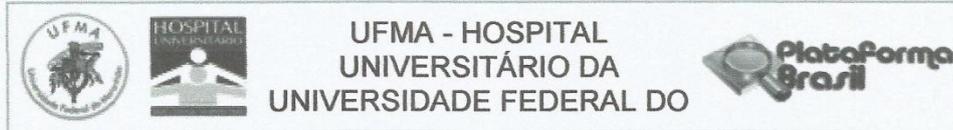
Projeto relevante pois tem por objetivo geral a avaliação dos casos de leishmaniose visceral canina e humana em São Luís - MA, após a interrupção do programa de controle de zoonoses. A leishmaniose visceral canina será analisada através de um inquérito amostral, onde serão analisados 200 cães, clinicamente e laboratorialmente, provenientes do Distrito Tirirical, São Luís, MA. O exame laboratorial será realizado por meio de testes sorológicos (ELISA). Além disso, será realizada a análise dos casos registrados e notificados da leishmaniose visceral canina e humana, respectivamente, obtidos pela Secretaria Municipal de Saúde de São Luís (SEMUS).

#### Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O protocolo apresenta documentos referente aos "Termos de Apresentação Obrigatória": Folha de rosto, Orçamento financeiro detalhado, Cronograma com etapas detalhada, Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) ou Termo de Dispensa do TCLE, Autorização do Gestor responsável do local para a realização da coleta de dados e Projeto de Pesquisa Original na íntegra em Word. Atende à Norma Operacional no 001/2013(item 3/ 3.3).

O protocolo apresenta ainda as declarações de anuência, declaração de responsabilidade financeira e termo de compromisso com a utilização dos dados resguardando o sigilo e a confidencialidade.

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227  
 Bairro: CENTRO CEP: 65.020-070  
 UF: MA Município: SAO LUIS  
 Telefone: (98)2109-1250 E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 2.453.899

**Recomendações:**

Após o término da pesquisa o CEP-HUUFMA solicita que se possível os resultados do estudo sejam devolvidos aos participantes da pesquisa ou a instituição que autorizou a coleta de dados de forma anonimizada.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

ANÁLISE ÉTICA REFERENTE AO ESTUDO EM HUMANOS:

O PROTOCOLO atende aos requisitos fundamentais da Resolução CNS/MS nº 466/12 e suas complementares, sendo considerado APROVADO.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

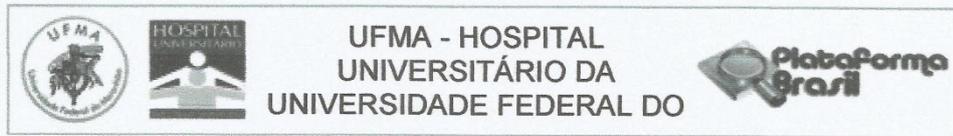
O Comitê de Ética em Pesquisa—CEP—HUUFMA, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº.466/2012 e Norma Operacional nº. 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela APROVAÇÃO do projeto de pesquisa proposto.

Eventuais modificações ao protocolo devem ser inseridas à plataforma por meio de emendas de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Relatórios parcial e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente após a coleta de dados e ao término do estudo.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_851469.pdf	04/12/2017 16:42:14		Aceito
Outros	carta_resposta_parecer4.doc	04/12/2017 16:41:28	RANIELLY ARAUJO NOGUEIRA	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.docx	04/12/2017 16:40:29	RANIELLY ARAUJO NOGUEIRA	Aceito
Outros	autorizacao_semus.pdf	04/12/2017 16:18:24	RANIELLY ARAUJO NOGUEIRA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	dispensa_de_tcle.docx	04/12/2017 16:15:32	RANIELLY ARAUJO NOGUEIRA	Aceito
Declaração do Patrocinador	responsabilidade_financeira.docx	04/12/2017 16:10:07	RANIELLY ARAUJO NOGUEIRA	Aceito

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227  
 Bairro: CENTRO CEP: 65.020-070  
 UF: MA Município: SAO LUIS  
 Telefone: (98)2109-1250 E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 2.453.899

Outros	compromisso_sigilo_modificado.docx	04/12/2017 16:08:39	RANIELLY ARAUJO NOGUEIRA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	participacao_projeto_modificado.docx	04/12/2017 16:06:50	RANIELLY ARAUJO NOGUEIRA	Aceito
Outros	termo_anuencia_modificado.docx	04/12/2017 16:01:18	RANIELLY ARAUJO NOGUEIRA	Aceito
Orçamento	orcamento_e_financiamento_modificado.docx	04/12/2017 15:59:04	RANIELLY ARAUJO NOGUEIRA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETOpplatbrasilcompleto.docx	10/09/2017 12:48:06	RANIELLY ARAUJO NOGUEIRA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	infra.pdf	11/07/2017 14:10:39	RANIELLY ARAUJO NOGUEIRA	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRosto.pdf	11/07/2017 14:04:30	RANIELLY ARAUJO NOGUEIRA	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

SAO LUIS, 21 de Dezembro de 2017

Assinado por:  
Rita da Graça Carvalho Frazão Corrêa  
(Coordenador)

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227  
Bairro: CENTRO CEP: 65.020-070  
UF: MA Município: SAO LUIS  
Telefone: (98)2109-1250 E-mail: cep@huufma.br

## ANEXO F – COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO ARTIGO

**Parasitology Research**  
**Atypical lesions in dogs naturally infected by Leishmania sp.**  
 --Manuscript Draft--

<b>Manuscript Number:</b>	
<b>Full Title:</b>	Atypical lesions in dogs naturally infected by Leishmania sp.
<b>Article Type:</b>	Original Paper
<b>Section/Category:</b>	Protozoology (Medical and Veterinary)
<b>Funding Information:</b>	
<b>Abstract:</b>	Canine visceral leishmaniasis is a disease caused by protozoa of the genus Leishmania. The dogs are considered the main reservoirs of this zoonosis and can exhibit different clinical manifestations, as fever, ocular signs, fatigue, anorexia, weight loss, lymphadenopathy, alopecia, dermatitis and onychogryfosis. In this study, we performed the identification of dogs with lesions not commonly associated with leishmaniasis, in which the diagnosis was made mainly through the observation of amastigotes in these lesions.
<b>Corresponding Author:</b>	Rafael Cardoso Carvalho, Ph.D Universidade Federal do Maranhão Chapadinha, Maranhão BRAZIL
<b>Corresponding Author Secondary Information:</b>	
<b>Corresponding Author's Institution:</b>	Universidade Federal do Maranhão
<b>Corresponding Author's Secondary Institution:</b>	
<b>Order of Authors:</b>	Maria Gabriela Sampaio Lira Ranielly Araújo Nogueira Renata Mondêgo Oliveira Tatiane Aranha Penha Silva Rafael Cardoso Carvalho, Ph.D Ana Lúcia Abreu Silva, Ph.D
<b>First Author:</b>	Maria Gabriela Sampaio Lira
<b>First Author Secondary Information:</b>	
<b>Order of Authors Secondary Information:</b>	
<b>Author Comments:</b>	
<b>Suggested Reviewers:</b>	<p>Andre Luis Resende Francioli, Ph.D Universidade de Sao Paulo andrefrancioli@usp.br The researcher presents experience in the field and can contribute in the review of the manuscript.</p> <p>Joicy Cortez Sá, Ph.D Professor, Universidade Ceuma joicyvet@hotmail.com The researcher presents experience in the field and can contribute in the review of the manuscript</p> <p>Lucilene Amorim Silva, Ph.D Professor, Universidade Federal do Maranhão lucileneamorimsilva@yahoo.com.br The researcher presents experience in the field and can contribute in the review of the</p>