

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA LEISHMANIOSE VISCERAL
CANINA NAS REGIÕES ADMINISTRATIVAS LAGO NORTE E
SOBRADINHO II DO DISTRITO FEDERAL – DF**

Geovani San Miguel Nascimento
Orientadora: Maria Auxiliadora Andrade

GOIÂNIA
2011

GEOVANI SAN MIGUEL NASCIMENTO

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA LEISHMANIOSE VISCERAL
CANINA NAS REGIÕES ADMINISTRATIVAS LAGO NORTE E
SOBRADINHO II DO DISTRITO FEDERAL – DF**

Dissertação apresentada para
obtenção do grau e Mestre em
Ciência Animal junto a Escola
de Veterinária da Universidade
Federal de Goiás.

Área de Concentração:
Sanidade Animal

Orientadora:
Profa. Dra. Maria Auxiliadora Andrade

Comitê de Orientação:
Profa. Dra. Valéria de Sá Jaime
Prof. Dr. Guido Fontgalland Coelho Linhares

GOIÂNIA
2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
GPT/BC/UFG

N244a Nascimento, Geovani San Miguel.
Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral canina nas regiões administrativas Lago Norte e Sobradinho II do Distrito Federal - DF [manuscrito] / Geovani San Miguel Nascimento. - 2011.
xv, 43 f. : il., figs, tabs.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Auxiliadora Andrade; Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Valéria de Sá Jaime.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia, 2011.
Bibliografia.

1. Leishmaniose Visceral Canina. 2. Epidemiologia. 3. Leishmaniose Visceral – Distrito Federal. I. Título.

CDU: 616.993.161

DEDICATÓRIA

Se existe alguém que tenho que
dedicar este trabalho, chamam,
Auxiliadora, Valéria, Anilton e Edi
pela paciência, apoio,
compreensão, carinho, atenção e
resignação neste período de
estudo.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por iluminar meus caminhos a todo o momento.

As minhas orientadoras Prof.Dr.Maria Auxiliadora Andrade e Prof.Dr.Valéria de Sá Jayme, pela atenção e presteza durante todo o curso.

A minha mãe e irmãos que sempre me incentivaram e nunca me deixaram parar.

Aos colegas da Universidade Federal de Goiás, pelo companheirismo, amizade durante o curso.

A Diretoria de Vigilância Ambiental em Saúde da Secretaria de Saúde do Governo do Distrito Federal, que serviu de apoio e base para execução de todo o trabalho.

Aos amigos que tanto me ajudaram para realização deste trabalho e muitos outros ensinamentos nas pessoas Anilton, Alex, Angelika, Maria Isabel, Péricles, Rodrigo e Waneska.

Ao pessoal do Laboratório de Leishmaniose e Canil, Marlene e Neto, Valdivino e Lisomar pela ajuda e apoio na coleta de sangue dos animais e processamento de amostras.

E por fim um agradecimento especial aqueles que aqui não citei e que contribuíram direta ou indiretamente para realização deste sonho.

Insanidade é continuar fazendo
sempre a mesma coisa e esperar
resultados diferentes
Albert Einstein

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	03
2.1 Histórico.....	03
2.2 Etiologia.....	05
2.3 Patologia.....	06
2.4 Distribuição geográfica.....	07
2.5 Espécies de leishmania.....	09
2.6 Reservatório	10
2.7 Vetores	11
2.8 Aspectos clínicos e laboratoriais	12
2.9 Controle e profilaxia	15
2.10 Tratamento	16
3. OBJETIVOS	18
3.1 Objetivo geral	18
3.2 Objetivos específicos	18
4. MATERIAL E MÉTODOS	31
4.1 Área do estudo	31
4.2 Local e período da experimentação.....	34
4.3 Animais utilizados no estudo.....	34
4.4 Colheita do material.....	35
4.5 Diagnóstico Laboratorial.....	35
4.6 Análises Estatísticas.....	36
5.RESULTADOSE DISCUSSÃO.....	37
6. CONCLUSÃO.....	46
REFERÊNCIAS.....	47

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivos determinar a prevalência e os aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral canina nas regiões administrativas Lago Norte e Sobradinho II do Distrito Federal. Foram realizados inquéritos censitários em quatro localidades do Distrito Federal, onde se fez o levantamento de dados e coletou sangue de 5551 de cães no Lago Norte, 272 no Varjão e 836 amostras de sangue cães na Comunidade do Bananal e Engenho Velho em Sobradinho II. Foi avaliada a idade, sexo, raça, presença de sinais clínicos, situação domiciliar, presença de galinhas nas propriedades, residências arborizadas, presença de horta, material orgânico. As amostras de soros sanguíneos foram submetidas ao exame de Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), considerando positivas as amostras com titulações reagentes superiores ou iguais a 1:40. Foi observada a prevalência 6,66% (17/255), 13,13% (44/335), 15,40% (61/396), 22,32% (1013/4538), Varjão, Engenho Velho, Bananal e Lago Norte. Em relação à idade 10,90% (70/643), 22,40% (619/2763), 24,00% (297/1236), tinham idade até um ano, considerada como população jovem, tinha de um a seis anos, considerados como população média tinham idade superior a seis anos corresponde a animais idosos. Em relação à presença ou ausência de sinais clínicos 30,31% (238/785) e 18,61% (846/4544) apresentou alguma alteração clínica e não apresentou alterações clínicas.

Pode-se concluir que Leishmaniose Visceral Canina está distribuída em diferentes regiões do Distrito Federal apresentando com maiores fatores de risco a localidade, a idade e a presença de alterações clínicas e o conhecimento obtido sobre a prevalência da leishmaniose em cães permitirá estabelecer estratégias eficazes para ações de controle.

ABSTRACT

This study aimed to determine the prevalence and epidemiological aspects of canine visceral leishmaniasis in Lago Norte and Sobradinho II, administrative regions of the Federal District. Census surveys were conducted in four localities of the Federal District where the data were collected and blood sampled from 5,551 dogs in Lago Norte and from 272 dogs in Varjão and from 836 dogs from Bananal and Engenho Velho communities in Sobradinho II. We evaluated age, sex, breed, presence of clinical signs, wooded homes, the presence of the garden, organic material, home situation and the presence of chicken in the properties. The sera samples were submitted to indirect immunofluorescence test (IFA), and samples with reagent titers greater than or equal to 1:40 were considered positive. Prevalences of 6.66% (17/255), 13.13% (44/335), 15.40% (61/396) and 22.32% (1013/4538), were found in Varjão, Engenho Velho, Bananal and Lago Norte. Regarding age, 10.90% (70/643) were aged up to one year, considered a young population, 22.40% (619/2763) were at one to six years of age, considered as a middle-aged population, and 24.00% (297/1236) were older than six years of age, corresponding to old animals. Regarding the presence or absence of clinical signs, 30.31% (238/785) had some clinical changes and 18.61% (846/4544) showed no clinical changes. One can conclude that this canine visceral leishmaniasis is distributed in different regions of the Federal District being the location, the age and the presence of clinical changes the highest risk factors. The knowledge gained on the prevalence of leishmaniasis in dogs will allow the establishment of effective strategies for control actions.

1 INTRODUÇÃO

As leishmanioses são doenças causadas por protozoários tripanosomatídeos do gênero *Leishmania*, consideradas primariamente como zoonoses (ALMEIDA et al., 2009). Constituem-se importantes problemas de saúde pública, encontrando-se atualmente entre as doenças tropicais prioritárias da Organização Mundial de Saúde.

A leishmaniose visceral (LV) ou calazar, desde que diagnosticada no Brasil, tornou-se um constante desafio para a Saúde Pública sob diversos aspectos. É uma doença crônica, grave, de alta letalidade quando não tratada e que vem apresentando com perfis epidemiológicos distintos para cada região onde ocorre. Se no começo do século XX era pensada como doença esporádica, atualmente é fato sua endemicidade nas regiões do País, além de ocasionar focos emergentes e reemergentes em alguns municípios.

A pele é a porta de entrada para a infecção, pela qual a fêmea do vetor, no território brasileiro, os flebotomíneos *Lutzomyia longipalpis* e *Lutzomyia cruzi*, inoculam junto com a saliva as formas infectantes da *Leishmania*. A via de disseminação de *Leishmania* pode ser a hematogênica e/ou linfática e em cães têm sido encontradas no sangue periférico.

A técnica de reação de imunofluorescência indireta RIFI é um dos métodos mais comumente utilizados sendo a prova adotada como padrão ouro pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2006). Portaria nº 104, de janeiro de 2011, segundo a qual leishmaniose é uma das doenças de notificação obrigatória em todo território nacional.

A LV humana torna-se um problema real de saúde pública, porque é uma infecção oportunista em pacientes imunocomprometidos. Com a crescente necessidade do controle da doença em seres humanos, pesquisas em cães são desenvolvidas com objetivo de elucidar a epidemiologia, a fisiopatologia da doença, os métodos de diagnósticos e condutas terapêuticas.

As principais medidas de controle da LV no Brasil baseiam-se no diagnóstico e no tratamento de casos humanos, no controle dos vetores por meio do uso de inseticidas e manejo ambiental e na triagem sorológica (RIFI), com posterior eutanásia de cães positivos para leishmaniose (BRASIL, 2006).

O processo de migração que ocorre no Distrito Federal - DF, a falta de controle no trânsito de animais, as mudanças climáticas, o processo de urbanização desordenado e a proximidade de regiões com casos de LV humana e animal o tornam uma região de risco para ocorrência desta enfermidade.

A seleção das áreas do estudo embasou – se no registro do primeiro caso de leishmaniose visceral humana ocorrido na comunidade do Bananal/Fercal, onde foram detectados cães reagentes e a presença do *Lutzomyia longipalpis*. Já a inclusão da Região Administrativa do Lago Norte, justifica-se pela necessidade de realização de um inquérito sorológico canino na área, objetivando a determinação da prevalência canina e fatores de risco importantes para implantação de um programa efetivo de prevenção e controle das leishmanioses.

Os resultados encontrados darão subsídios aos profissionais de saúde, clínicos veterinários e população em geral sobre o conhecimento da dinâmica e comportamento da enfermidade em um novo ecossistema, determinando assim, a possibilidade de estudo e conhecimento de formas peculiares do comportamento, clínica nos animais, do risco da infecção nos seres humanos e outros fatores que possam ser considerados importantes para o conhecimento da doença.

Acrescenta – se que o tipo de estudo desenvolvido permite determinar a soroprevalência e identificar fatores de risco para detecção da Leishmaniose Visceral Canina, contribuindo para ampliação do conhecimento da zoonose na região, além de auxiliar no desenvolvimento de novos métodos diagnósticos e de controle da infecção em cães.

2 REVISÃO LITERATURA

2.1 HISTÓRICO

Calazar, palavra de origem hindu, significa febre negra. Desde a sua primeira descrição, várias denominações foram utilizadas para exprimir uma enfermidade febril, que evoluía com disenteria, caquexia e hepatoesplenomegalia, levando o paciente a morte num quadro séptico onde nenhum organismo era identificado *in vivo* ou *post-mortem*. O caráter endêmico a confundia com formas malignas de malária, sendo designada em diversas regiões da Ásia de Febre de Dum-Dum, Febre de Assam, Febre Caquencial, Esplenomegalia Tropical, Anemia Esplênica dos Lactentes, Febre Negra Indiana (BADARÓ & DUARTE, 2002).

A leishmaniose visceral (LV) foi descrita na Grécia em 1835 quando então era denominada “ponos” ou “hapoplinakon”. Foi na Índia em 1869 que recebeu o nome “kala-jwar”, que quer dizer febre negra, ou “kala-azar”, que significa pele negra em virtude do discreto aumento da pigmentação da pele ocorrido durante a doença. (MARZOCHI et al., 1981)

Leishman em 1900 e Donovan em 1903 descobriram que o agente da doença humana denominada *Kala-azar* (enfermidade negra), que ocorria na Índia, era um protozoário que Ross, em 1903, denominou *Leishmania donovani*, em homenagem aos dois pesquisadores. Pouco depois, na bacia do Mediterrâneo, verificou-se haver uma leishmaniose visceral similar ao kalazar que, em 1980, foi descrita afetando também os cães, denominando-se *L. canis* a espécie que parasitava cães na Tunísia (CORRÊA & CORRÊA, 1992).

Em 1900, William Leishman identificou um protozoário no baço de um soldado que veio a óbito na Índia, em decorrência de uma febre conhecida no local como “febre “Dum Dum” ou “Kala-azar”, sendo que em 1903 Donovan encontrou o mesmo parasita em outro paciente. Ainda no mesmo ano, Laveran & Mesnil descreveram o protozoário com o nome de *Piroplasma donovani*. Leonard Rogers, em 1904, foi o primeiro a conseguir cultivar o parasita e observou que nas culturas ele era visto sob a forma flagelada. Patton, em 1907 observou as formas leishmanias (amastigotas)

em monócitos e as formas leptomonas (promastigotas) no intestino de mosquitos que eram alimentados sobre pacientes com calazar (FAUST et al. 1974).

Somente em 1942, a transmissão da *L.donovani* ao homem pela picada do *P.argentipes* foi definitivamente demonstrada, fechando o ciclo da zoonose. De 1905 até 1950, o calazar foi descrito em várias regiões do mundo, sendo endêmico no Norte e Leste da África, em quase toda a Ásia, da costa do Pacífico até a Ásia Central, China e Sul da Mongólia até a Índia. Na Europa, várias áreas foram identificadas na costa do Mediterrâneo, Romênia, Bulgária e diversas partes da Rússia (BADARÓ & DUARTE, 2002).

A primeira suspeita da existência da LV nas Américas se deu em 1913, no Paraguai, quando Migone encontrou “corpúsculos” semelhantes à leishmânias no sangue periférico de um paciente febril, que havia trabalhado na construção da ferrovia São Paulo – Corumbá, no Brasil. Contudo, Migone não confirmou *post-mortem* o diagnóstico da doença. Somente treze anos mais tarde, Mazza e Cornejo em 1926 confirmaram a autoctonia da LVA, quando diagnosticaram, parasitologicamente, dois casos em criança no norte da República Argentina (SILVEIRA et al.1997).

O primeiro caso no Brasil foi descrito por Migone em 1913. O paciente era um imigrante italiano que vivera muitos anos em Santos, São Paulo e após viajar para Mato Grosso, adoeceu, tendo sido diagnosticada a doença no Paraguai. Foi Penna, um patologista do Instituto Oswaldo Cruz, quem, em 1934 iniciou os estudos sobre a distribuição geográfica da LV nas Américas, quando comprovou parasitologicamente, 41 casos dentre as 40.000 viscerotomias examinadas para febre amarela provenientes de vários estados do Brasil (ALENCAR, 1977).

Com relação à terapêutica, após a introdução do antimonial trivalente (tártaro emético) por Gaspar Vianna, em 1912, houve uma mudança radical no que diz respeito à sobrevivência dos pacientes portadores de leishmaniose visceral. Na Índia, cerca de 85 a 95% dos pacientes portadores de calazar evoluíam invariavelmente, para a morte. Com o advento desta terapia, houve modificação no comportamento evolutivo da doença em humanos, aumentando a expectativa de vida de milhares de pacientes em todo o mundo. Devido aos efeitos colaterais importantes, o tártaro emético foi substituído por outros antimoniais trivalentes, tais como: estibofeno e solustibosan. Por volta de 1912, Brahamachari, na Índia, sintetizou o primeiro

antimonial pentavalente com o nome de *urea stibamine*, considerada uma droga mais eficaz e menos tóxica em relação as anteriores (SILVEIRA et al.1997).

Foi realmente no período de 1953 a 1965 que a LV foi plenamente reconhecida como endêmica no Brasil e de maior expressividade na América Latina, destacando-se os focos de Sobral no Ceará com 174 casos (Aragão, 1953), Jacobina, na Bahia, com 31 casos (Pessoa, 1955) e no Piauí 45 casos (Alencar, 1958). Deane estabelece definitivamente a zoonose no Brasil com estudos dos reservatórios naturais apontando a importância do cão e da raposa (*Lycalopex vetulus*) na manutenção da endemia nas áreas de maior incidência no Brasil (BADARÓ & DUARTE 2002).

2.2 ETIOLOGIA

A LV, ou calazar, é uma antroponose de distribuição cosmopolita causada por protozoários pleomórficos intracelulares com formas promastigotas (com flagelo externo) e amastigotas (não-flageladas), pertencentes ao filo *Mastigophora*, que inclui todos os protozoários com um ou mais flagelos e reprodução assexuada por divisão binária. Pertencem à ordem *Kinetoplastida*, caracterizada pela presença de um cinetoplasto e à família *Trypanosomidae*, gênero *Leishmania spp.* (LAINSON & SHAW, 1987; KONTOS & KOUTINAS, 1993; RIBEIRO, 1997). Todas as espécies de *Leishmania* exibem um ciclo heteroxênico semelhante. Formas promastigotas desenvolvem-se no tubo digestivo de um inseto flebótomo hospedeiro; formas amastigotas, arredondadas e sem flagelo, sendo parasitos intracelulares obrigatórios, encontram-se nas células do sistema mononuclear fagocitário de hospedeiros vertebrados (LAINSON & SHAW, 1987; FEITOSA et al., 2000; SÃO PAULO, 2006).

Do mesmo modo que as espécies que causam a leishmaniose tegumentar, a *Leishmania (L.) chagasi* de acordo com LAINSON & SHAW (1987), SILVEIRA et al.(1997) apresenta-se sob duas formas principais:

- Amastigota arredondada ou ovóide, sem flagelo livre, com dimensões que variam entre 2 a 4 nm por 1,5 a 2,5 nm. Nesta forma devem-se distinguir a membrana celular, o citoplasma, o núcleo e o cinetoplasto. É encontrada no interior das células do sistema fagocítico monoclear (SFM), principalmente no baço, fígado, medula óssea e gânglios linfáticos.

- Promastigota é a forma infectante para os hospedeiros vertebrados, incluindo o homem, encontrada naturalmente no tubo digestivo dos vetores flebotomíneos (somente nas fêmeas), podendo ser cultivada em laboratório em meios artificiais de cultura. Tem aspecto fusiforme, com duas extremidades posteriores, mais delgadas. Apresenta os mesmos elementos celulares que a forma amastigota (membrana celular, citoplasma, núcleo central e cinetoplasto deslocado para a extremidade anterior). Ambas as formas multiplicam-se pelo processo de divisão binária.

2.3 PATOLOGIA

A *L. (L.) chagasi* é um protozoário que tem tropismo primário pelas células do sistema fagocítico mononuclear (SFM), destacando-se baço, fígado, medula óssea e linfonodos. A evolução da infecção depende de cepa do parasito, idade e mecanismos de defesa do indivíduo, afetado pode resultar em cura espontânea ou evolução para a cronicidade. Após inoculação cuja lesão no local muitas vezes é inaparente, a *Leishmania*, sob a forma promastigota, dissemina-se por via hematogênica, com tropismo pelas células do SFM. Simultaneamente, os mecanismos de defesa começam a se manifestar. A forma promastigota (forma infectante) é fagocitada por células mononucleares, onde se transforma em forma amastigota e esta segue o desenvolvimento e multiplicação intracelular; com a formação de numerosas amastigotas-filhas, a membrana celular rompe-se e algumas novamente serão fagocitadas por mononucleares (SILVEIRA et al.1997).

Isto induz, segundo BADARÓ & DUARTE (2002), a hiperplasia celular do SFM, levando a hepatoesplenomegalia, adenomegalias discretas, pneumonite intersticial pela ocupação e lesão de células alveolares e infiltração da medula óssea, determinando redução da hematopoiese, seqüestro esplênico e fenômenos hemorrágicos. Por ativação da imunidade humoral, as células plasmáticas tornam-se hiperfuncionantes levando a hipergamaglobulinemia com aumento da anticorpopogênese; a diminuição da população celular ao nível da zona paracortical dos linfonodos leva à diminuição dos linfócitos T. A ativação policlonal dos linfócitos B está relacionada à produção acentuada de imunoglobulinas, formação de auto-anticorpos e de imunocomplexos circulantes. A infiltração das placas de Peyer acelera o trânsito intestinal, justificando em parte a hipoalbuminemia.

Já é conhecida a relação da doença com a desnutrição. Diversos autores já relataram que a desnutrição é um importante fator para o desenvolvimento de doenças parasitárias, entre elas a LV HARRISON et al.,(1986); PEARSON et al.,(1992). CERF et al.(1987). Buscando a associação entre a desnutrição e a LV, através de um estudo prospectivo realizado no estado da Bahia, demonstraram que o risco relativo de desenvolver a forma grave da LV era 8,7 vezes maior entre crianças com desnutrição grave a severa do que entre aquelas com um *status* nutricional considerado como normal. Apesar de não se determinar uma relação causal entre esses dois fatores, as evidências sugerem que a desnutrição pode resultar em uma resposta imune deficiente, sendo que respostas anormais aos testes intradérmicos de hipersensibilidade tardia (TIHR) são demonstradas em crianças desnutridas (SALIMONU et al.,1982).

A relação da LV com a imunossupressão decorrente da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) e de outras patologias já é bastante conhecida. Trata-se de uma doença oportunista comum entre pacientes imunossuprimidos de áreas endêmicas (ALTES et al.,1991).

2.4 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

Na Ásia em pelo menos 15 países são identificadas áreas de grande endemicidade. Em Bangladesh epidemias ocorrem regularmente durante 15 a 20 anos, entre 1950-1960 notificam-se 1.500-4.000 casos anuais. Entre 1980-1988, centenas de casos foram relatadas, com uma taxa de mortalidade de 6,4%. Em 1990, a Organização Mundial de Saúde (OMS) notificou entre 10.000 a 15.000 casos novos. Na China antes de 1950, a LV era endêmica em 650 municípios, 12 províncias e três regiões do Leste, Nordeste e Noroeste da China, com mais de 600.000 casos. Após 1958, com o programa de controle nacional (tratamento em massa da doença, extermínio dos cães e uso de inseticidas), a doença foi controlada. Todavia, ressurgiu em 1968, 1970 e 1988 em várias regiões. A situação epidemiológica é bastante diversa e complexa, sendo identificadas três diferentes entidades nosogeográficas: focos antropométricos nas planícies do Leste, onde os casos são em adultos(BADARÓ & DUARTE 2002).

Desde a descoberta na Índia, o calazar foi altamente prevalente do Oeste da Bengália até os Vales da Assam. Na Europa, a região do Mediterrâneo é onde se

concentram mais de 95% dos casos. Na Itália destacam-se as regiões da Sicília, Tuscany e Puglia, com elevadas taxas de infecção canina. Já na África, a LV é caracterizada pelos surtos epidêmicos com milhares de casos relatados sendo uma regiões de grande importância (BADARÓ & DUARTE, 2002).

Nas Américas, a LV é encontrada desde os Estados Unidos até o norte da Argentina e casos humanos têm ocorrido desde o México até a Argentina. No Brasil, a doença se tornou endêmica e de grande importância para saúde pública, já que ocorrem surtos com certa frequência (MONTEIRO et al., 1994).

A LV está distribuída em 19 dos 27 estados da federação. Na década de 90, a distribuição geográfica da LV atingiu em especial a região Nordeste com maior número de casos (92%), seguida pela região Sudeste (4% dos casos), região Norte (3%) e Centro-Oeste (1%). Os estados com maiores números de casos humanos foram a Bahia (32,5%), Piauí (14%), Ceará (12,8%) e Maranhão (11,1%). Os maiores coeficientes de incidência foram encontrados no Piauí, Roraima, Sergipe e Bahia. Contudo presenciaram-se surtos epidêmicos urbanos de calazar em Natal e Belo Horizonte (MAURICIO et al., 2000).

Em seu processo de transição, a distribuição do calazar foi se modificando com a transferência de perfis de morbi-mortalidade características do meio rural para o ambiente urbano, além do incremento em vários estados. Cidades como, Boa Vista e Santarém (região Norte); Teresina, São Luiz, Natal e Aracaju (região Nordeste); Montes Claros, Belo Horizonte, Araçuaí, Sabará e Rio de Janeiro (região Sudeste) e Cuiabá (região Centro-Oeste) já vivenciaram ou vivenciam, epidemias de calazar humano e canino (ALVES, 2001).

Ainda segundo o mesmo autor, os números reais de casos de LV devem ser mais elevados, já que em um grande número de pacientes só é diagnosticado quando a doença já se encontra em níveis mais avançados, com nítida hepatoesplenomegalia. Além do mais, muitos casos vão a óbito ou não são notificados, principalmente em crianças e adultos jovens. Isto ocorre devido a muitas vezes, o clínico não orientar a sua suspeita para o calazar. Neste sentido, vale salientar os casos oligossintomáticos, de difícil diagnóstico clínico e de grande importância epidemiológica.

2.5 ESPÉCIES DE LEISHMÂNIA

A LV no Mediterrâneo é causada pela *Leishmania (L.) infantum* e transmitida por algumas espécies do gênero *Phlebotomus*. Na América Latina a doença recebe o nome de Leishmaniose Visceral Americana (L.V.A.) e é causada pela *L. (L.) chagasi* ou como era anteriormente denominada, *Leishmania donovani*. Tanto a *L. infantum* como a “antiga” *L. donovani* provocam patologia similar e são capazes de infectar várias espécies de animais de laboratório. Quando Cunha e Chagas, em 1937, falharam ao infectar animais com *L. donovani* isolada de casos de LV provenientes do estado do Pará, concluíram que se tratasse de uma nova espécie, que denominaram *Leishmania chagasi*. Em 1938, entretanto, Cunha conseguiu infectar hamsters, cães e macacos, verificando que as conclusões anteriores foram atribuídas a culturas não viáveis. Com base nas características bioquímicas das culturas das duas espécies, no ponto térmico de morte e no efeito lítico da bile sobre os dois parasitas, Senekjic (1944) reforçou as idéias de Cunha, propondo a classificar a *L. (L.) chagasi* como sinônimo da *L.(L.) donovani* (BADARÓ & DUARTE 2002).

A *L.(L.) chagasi* possui uma ampla distribuição nas Américas, ocorrendo na Argentina, Bolívia, Brasil, Colômbia, Paraguai, Venezuela, Guatemala, Honduras, Martinica, México e El Salvador. Apresenta como hospedeiros silvestres alguns mamíferos e o cão, como principal hospedeiro doméstico. O único vetor até o momento incriminado na transmissão da doença é o *L. longipalpis*, embora, alguns trabalhos sugerem outras espécies de vetores como transmissores da doença, como o *L. evansi*, na Colômbia e o *L. cruzi*, no Mato Grosso do Sul (ALVES, 2001).

No momento existem divergências sobre o uso do nome específico *chagasi* para o agente etiológico da leishmaniose visceral. Com base nos perfis isoenzimáticos, alguns autores consideram que *Leishmania (Leishmania) chagasi* é igual a *Leishmania (Leishmania) infantum*, por isso, o nome *chagasi* seria sinônimo de *infantum*.

Porém, outros autores chamam atenção para diferenças bioquímicas e preferem, por enquanto, manter o nome *chagasi*. O uso do nome *Leishmania donovani chagasi* é incorreto, pois a *L. donovani* pertence a um grupo geneticamente diferente, que causa leishmaniose visceral no subcontinente indiano (BRASIL, 2006).

2.6 RESERVATÓRIOS DA LEISHMANIOSE VISCERAL

Na área urbana, o cão (*Canis familiaris*) é a principal reservatório da doença. A enzootia canina tem precedido a ocorrência de casos humanos e a infecção em cães tem sido mais prevalente do que no homem (BRASIL 2006). Quando infectado, apresenta intenso parasitismo cutâneo pela *L.(L.) chagasi*, o que o torna excelente fonte de infecção para o flebotomíneo vetor. Contudo, assim como o homem, é apenas um hospedeiro acidental do parasito (SILVEIRA et al.,1997).

A canídeos silvestres é o reservatório silvestre primitivo da leishmaniose visceral, no qual, a infecção pela *L.(L.) chagasi* não causa danos a saúde. No Brasil, são conhecidas duas espécies observadas com infecção natural por *L.(L.) chagasi*: *Lycalopex vetulus*, encontrada mais frequentemente nas regiões Sudeste, Centro-Oeste e Nordeste, e *Cerdocyon thous*, encontrada na Amazônia (LAINSON et al.,1990).

A doença nos reservatórios animais pode apresentar uma forma enzoótica, e mesmo não causar danos a canídeos selvagens, ou atingir formas epizooticas, que envolvem a disseminação rápida da doença entre uma população-reservatório não imune, o que frequentemente resulta em alta letalidade (SILVEIRA et al.,1997).

Os marsupiais (*Didelphis albiventris*) também são importantes reservatórios do ambiente silvestre e foram encontrados infectados no Brasil e na Colômbia (DEANE, 1956; LAINSON et al.,1990; BRASIL, 2006).

Esses animais costumam ser encontrados com facilidade em florestas alteradas pela ação antrópica. São vistos com frequência nos quintais das residências situadas nas bordas das matas, atraídos por galinheiros ou lixo em busca de alimento. Apresentam hábitos crepusculares e noturnos. Escondem-se em ocos de árvores onde passam o dia dormindo. Seu comportamento sinantrópico e a sua área de vida bem próxima tornam possível o compartilhamento dos vetores e parasitas, com o homem e o cão (TRAVI et al.,1994). Estudos colocam estes animais na lista de preferências alimentares tanto pela *L. longipalpis*, no Brasil (SHERLOCK et al.,1984) como pela *L. evansi* na Colômbia (SHERLOCK et al.,1984, NOWAK,1991, TRAVI et al., 1994).

2.7 VETORES DA LEISHMANIOSE VISCERAL

Os vetores são insetos denominados flebotomídeos, conhecidos popularmente como mosquito palha, tatuquiras, birigui. No Brasil duas espécies, até o momento, estão relacionadas com a transmissão da doença *Lutzomyia longipalpis* e *Lutzomyia cruzi*. A primeira é considerada a principal espécie transmissora da *L. (L.) chagasi* no Brasil e, recentemente, *L. cruzi* foi incriminada como vetor no estado de Mato Grosso do Sul. A distribuição geográfica de *L. longipalpis* é ampla e parece estar em expansão. Esta espécie é encontrada em quatro das cinco regiões geográficas: Nordeste, Norte, Sudeste e Centro-Oeste. O *L. longipalpis* era encontrado originalmente nas matas, participando do ciclo primário de transmissão da doença. Progressivamente, houve sua adaptação para o ambiente rural, condição somada à presença de animais silvestres e sinantrópicos. Esses insetos são pequenos, medindo de 1 a 3 mm de comprimento, possuem o corpo revestido por pêlos e são de coloração clara (castanho claro ou cor de palha). São facilmente reconhecíveis pelo seu comportamento, ao voar em pequenos saltos e pousar com as asas entreabertas (BRASIL, 2006).

Ambos os sexos necessitam de carboidrato como fonte energética e as fêmeas alimentam-se também de sangue para o desenvolvimento dos ovos. As fêmeas adultas vivem em torno de vinte dias e somente elas são hematófagas. O sangue ingerido vai auxiliar na maturação dos ovários. Seus ovos são depositados em fendas, pedras, raízes tabulares e sobre substrato orgânico com pouca umidade, onde ficam aderidos devido à substância viscosa que acompanha a desova (REY,1991). A postura realiza-se oito dias após o repasto sanguíneo. São encontrados no ambiente silvestre (LAINSON et al.,1990) assim como no peridomicílio principalmente em abrigos de animais domésticos e também freqüentam o interior de domicílio (SOUZA et al.,1981).

No Brasil, a forma de transmissão é através da picada dos vetores – *L. longipalpis* ou *L. cruzi* – infectados pela *Leishmania (L.) chagasi*. Não ocorre transmissão direta da LV de pessoa a pessoa. A transmissão ocorre enquanto houver o parasitismo na pele ou no sangue periférico do hospedeiro (BRASIL, 2006).

2.8 ASPECTOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS DA LV.

No homem, por ser uma doença de notificação compulsória e com característica clínicas de evolução grave, o diagnóstico deve ser feito de forma precisa e o mais precocemente possível. A suspeita clínico da LV deve ser levantada quando o paciente apresentar: febre, emagrecimento progressivo, palidez cutâneo-mucosa e esplenomegalia, associada ou não à hepatomegalia (BRASIL, 2006).

A suspeita clínica da LVA não se baseia somente na sintomatologia, uma vez que esta é pouco sugestiva e pode ser confundida com outras patologias tais como malária, esquistossomose hepatoesplênica, doença de Chagas, brucelose, febre tifóide e outras. Evidências de ordem epidemiológica como o caso ser procedente de área endêmica, características fisiográficas da região, tipo de inseto predominante no local, ou existência de cães suspeitos, são importantes para a caracterização do quadro clínico (MARZOCHI et al.,1981).

O período inicial ou prodrômico pode ser súbito ou insidioso, com febre de longa duração, do tipo irregular, indisposição, anorexia e emagrecimento, quando que evolui por 30 a 60 dias, finalizando com agravamento do estado geral. A febre varia de 37 a 40°C, quase sempre é diária, intermitente, remitente ou contínua, com um a dois picos febris, acompanhada de sudorese. O comprometimento do estado geral é progressivo, com emaciamento, palidez cutaneomucosa importante, linfadenopatia sistêmica, pele seca e áspera, alongamento dos cílios, queda dos cabelos, estomatite, edema de membros inferiores, podendo chegar a anasarca. O abdome torna-se volumoso, evidenciando-se circulação venosa superficial, hepatoesplenomegalia, com maior aumento do baço em relação ao fígado. Quadros diarréico pode estar presente, inclusive disenteriformes. Quando há tosse, geralmente deve-se a processos pulmonares bacterianos secundários ou infiltrado pulmonar pelo próprio parasito. O período final cursa com ascite volumosa, derrame pleural, hepatoesplenomegalia importante, hemorragias sistêmicas e infecções bacterianas secundárias, que o dependerá do tempo entre o início deste quadro e a terapêutica específica instituída (SILVEIRA et al.1997).

No diagnóstico imunológico e parasitológico os exames sorológicos, Imunofluorescência Indireta (IFI) e Ensaio Imunoenzimático (ELISA) são invariavelmente reativos e a Intradermorreação de Montenegro (IDRM) negativa. Os aspirados de medula ósseas e do baço geralmente mostram presença de formas

amastigotas do parasito. Na forma oligossintomática, a punção aspirativa de medula óssea pode ou não mostrar a presença da *Leishmania*, não sendo, a princípio, indicada a sua realização, a IDRM pode estar positiva e a sorologia é, invariavelmente, reagente. O método do PCR (amplificação do DNA do parasito) amplia o diagnóstico da LV, pois apresenta 94% de sensibilidade. Entretanto, os seus resultados dependem de algumas variáveis envolvidas, entre elas áreas endêmicas, o tipo de amostra, o alvo do DNA utilizado para amplificação, o método de extração do DNA (BRASIL, 2006).

No cão a doença é de evolução lenta e início insidioso. A LVC é uma doença sistêmica severa cujas manifestações clínicas estão intrinsecamente dependentes do tipo de resposta imunológica expressa pelo animal infectado. O diagnóstico se dá com base nos sinais clínicos tais como dermatopatias de ocorrência comum na LV canina, apresentando: alopecia local ou generalizada, dermatite esfoliativa e ulcerações crostosas em geral no focinho, nas orelhas e nas extremidades, descamação furfurácea e a presença de nódulos cutâneos que eventualmente podem ulcerar (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2003; QUEIROZ et al., 2006).

No entanto, existe um grande percentual de animais assintomáticos, havendo opiniões contrárias na literatura em relação à cura espontânea. É importante lembrar que em muitos casos os animais não apresentam sinais clínicos, mas possuem sorologia positiva, atuando desta forma como eficientes reservatórios da enfermidade (REY, 2001).

Apesar de o diagnóstico clínico ser importante, não se aconselha realizar o diagnóstico da doença isoladamente, sendo necessário o exame laboratorial direto e indireto, para confirmação de cada caso (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2003; LUVIZOTTO, 2006).

O diagnóstico da LV é, muitas vezes, um problema para o veterinário. Isso se deve a grande variedade de sinais clínicos observados em cães, alterações histopatológicas inespecíficas e lesões semelhantes às observadas em outras doenças infecciosas e imunomediadas e a ausência de um teste diagnóstico 100% específico e sensível (LUVIZOTTO, 2006).

O diagnóstico para identificação do parasita pela microscopia e cultura normalmente se baseia na identificação citológica e histológica de amastigotas, contidas nos macrófagos e livres, em lâminas coradas de linfonodos, aspirados esplênicos, impressões de pele, ou medula óssea. A especificidade destes métodos,

dependendo do tempo gasto para verificar os parasitas, é de aproximadamente 80% em cães com sinais clínicos de doença e baixo em indivíduos soropositivos assintomáticos (LITTLE, 2006). A punção aspirativa de medula óssea, de linfonodos, raspados de pele lesionada, isolamento em meio de cultura e ainda a prova biológica, xenodiagnóstico, que consiste na inoculação intraperitoneal do material suspeito em *hamsters* (*Mesocricetus auratus*) são alguns outros métodos eficientes e comprovados de diagnóstico (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2003; LUVIZOTTO, 2006).

Dentre os métodos moleculares (PCR), permite identificar e ampliar seqüências de DNA do parasita que podem ser encontrados em uma variedade de tecidos como, medula óssea, aspirados de linfonodos, biópsias cutâneas, sangue, cortes histológicos de tecidos parafinados e também no vetor. Em amostras de medula óssea, a PCR tem apresentado melhores resultados em relação ao sangue e a pele, pois nas amostras de sangue a sensibilidade é baixa, provavelmente devido ao número de parasitas presentes no sangue periférico (LITTLE, 2006; GARCIA; MARCONDES, 2007).

Vários métodos sorológicos têm sido usados para detectar anticorpos soro anti-Leishmania, destacando - se testes como a RIFI, Ensaio Imunoenzimático (ELISA), Ensaio de Aglutinação Direta e Western Blotting. Em geral, estes métodos têm boa sensibilidade e especificidade diagnóstica na LV clínica. Cães infectados assintomáticos que desenvolvem lentamente a doença são freqüentemente soropositivos (LITTLE, 2006). Em casos de resultados sorológicos inconclusivos, recomendam-se outros métodos adicionais de detecção (INIESTA et al., 2002).

Entretanto, usa-se o diagnóstico em cães pelo exame sorológico de reação de imunofluorescência indireta (RIFI), *kit* Biomanguinhos, sendo considerado positivo o título igual ou superior a 1:40 (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2003). A técnica de RIFI é um dos métodos mais comumente utilizados sendo a prova adotada como padrão ouro pelo Ministério da Saúde, segundo a portaria nº 104, de janeiro de 2011 na qual a Leishmaniose é uma das Doenças de Notificação obrigatória em todo território Nacional.

É importante ressaltar que em situação em que o proprietário do animal exigir uma contraprova, esta deverá ser uma prova sorológica, realizada por um laboratório da Rede, preferencialmente. A contra-prova sorológica poderá ser ainda

realizada pela referências, estadual e/ou nacional, e o tempo estimado para liberação do resultado dependerá do tempo de deslocamento da amostra até as referências, sendo a média esperada de 15 dias. Os resultados liberados por este laboratório serão considerados oficiais para fins de diagnósticos da infecção e da doença. Os laboratórios particulares, ou pertencentes a universidades e clínicas veterinárias, que realizam o diagnóstico da leishmaniose visceral canina, deverão participar do programa de controle de qualidade preconizado pelo Ministério da Saúde, enviando os soros para as referências, estadual e/ou nacional (BRASIL, 2006).

2.9 CONTROLE E PROFILAXIA

As principais medidas de controle recomendadas são uso de inseticidas no controle do vetor, uso de proteção individual (telar portas, janelas, uso de mosquiteiros, roupas compridas para evitar a picada do vetor e repelentes) além do uso de inseticidas que atuem contra o vetor nos animais de estimação em áreas endêmicas (JESUS & ARAÚJO, 2007).

O controle da transmissão urbana da LV é laborioso e de resultados nem sempre satisfatórios a partir de uma única aplicação residual de inseticida. Portanto, outras medidas mais permanentes são indicadas como o manejo ambiental, através da limpeza de quintais, terrenos e praças públicas, a fim de alterar as condições do meio, que propiciem o estabelecimento de criadouros de formas imaturas do vetor. Medidas simples como limpeza urbana, eliminação dos resíduos sólidos orgânicos e destino adequado dos mesmos, eliminação de fonte de umidade, não permanência de animais domésticos dentro de casa, entre outras, certamente contribuirão para evitar ou reduzir a proliferação do vetor (BRASIL, 2006).

Todos os esforços para controlar a leishmaniose na população canina em áreas endêmicas devem ser mobilizados. A eliminação de cães soropositivos nem sempre é a medida mais eficiente, além de ser o método de controle muitas vezes inaceitável para os proprietários. Além disto, muitas vezes cães sintomáticos, apresentam-se soronegativos, além de não serem a única fonte de infecção da doença (LITTLE, 2006).

Existem duas vacinas contra a leishmaniose visceral canina registrada no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, porém sem constatação de seu

custo-benefício e efetividade para o controle de reservatório da leishmaniose visceral canina em programas de saúde pública (BRASIL 2006).

2.10 TRATAMENTO

Os antimoniais pentavalentes (Sb^v) são os compostos mais amplamente utilizados no tratamento da leishmaniose. Particularmente no tratamento do calazar, seu uso data de 1915. O exato mecanismo de ação dos antimoniais é pouco conhecido. Admite-se que a droga tenha uma ação leishmanicida dentro dos macrófagos, entretanto o seu mecanismo molecular é pouco estudado. A ação nos amastigotas parece estar relacionada a inibição enzimática da via glicolítica e oxidativa de ácidos graxos no metabolismo da *leishmania*. Depois de administrada, a droga atinge concentrações plasmáticas bastante elevadas, de 10Mg/mL em uma a duas horas. A maior parte (80%) dos sais de antimônio é excretada rapidamente pelos rins em seis horas, com meia-vida de duas horas, permanecendo níveis plasmático de 1 a 2 mg após oito a 12 horas de administrado. Seguido a fase de excreção rápida, o antimônio residual que se concentra nos tecidos sofre uma eliminação lenta, com meia-vida de até 76 horas. No 12° dia de administração, os níveis teciduais atingem o seu toxicidade para o aparelho cardiovascular (BADARÓ & DUARTE, 2002).

Existem no mercado atualmente duas formulações de Sb+5 disponíveis: Stibogluconato de sódio e o antimoniato-N-metil glucamina, não parecendo existir diferenças quanto a eficácia terapêutica destas formulações. No Brasil, a única formulação disponível é o antimoniato N-metil glucamina, que vem sendo distribuída pelo Ministério da Saúde em ampolas de 5 mL, contendo 405mg de Sb+5 (1 ml = 81mg de Sb+5). As ampolas devem ser armazenadas em local fresco e ao abrigo da luz, para evitar problemas na estabilidade do medicamento (BRASIL, 2006).

A leishmaniose canina é mais resistente a terapia do que a leishmaniose humana, e raramente as leishmanias são completamente eliminadas com os fármacos disponíveis (BANETH et al., 2002).

O tratamento de cães não é uma medida recomendada, pois não diminui a importância do cão como reservatório do parasito. As tentativas de tratamento da LVC, por meio de drogas tradicionalmente empregadas (antimoniato de meglumina, anfotericina B, isotionato de pentamidina, alopurinol, cetoconazol, fluconazol,

miconazol, itraconazol), tem tido baixa eficácia. O uso rotineiro de drogas em cães induz à remissão temporária dos sinais clínicos, não previne a ocorrência de recidivas, tem efeito limitado na infectividade de flebotomíneos e leva ao risco de selecionar parasitos resistentes às drogas utilizadas para o tratamento humano (BRASIL, 2006).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Determinar a soroprevalência e identificar fatores de risco para detecção da Leishmaniose Visceral Canina (LVC) nas Regiões Administrativas Lago Norte e Sobradinho II do Distrito Federal – DF.

3.2 - Objetivos específicos

- Realizar inquérito sorológico canino para determinação da prevalência da LVC na Região Administrativa do Lago Norte e Sobradinho II das Comunidades do Engenho Velho e Bananal do Distrito Federal;
- Investigar a prevalência de cães segundo o sexo, faixa etária, raça, situação domiciliar e presença de alterações clínicas.

4 MATERIAL E METODOS

4.1 ÁREA DO ESTUDO

O Distrito Federal (DF) está localizado na Região Centro-Oeste do Brasil e possui uma população aproximada de 2.570.160 habitantes, sendo 1.961. 499 residentes na área urbana e 89.647 residentes na área rural, possuindo uma área territorial de 5.787.784 Km². Nos últimos anos vêm sofrendo grandes transformações principalmente na sua divisão política administrativa. Em 1997, existiam 19 Regiões Administrativas – (RAs), entre 2003, 2004 e 2005 foram criadas mais dez e ao final de 2007 completaram – se 29 RAs (CODEPLAN, 2006).

As regiões de escolha para o estudo foi uma área periurbana de Sobradinho II onde estão localizadas as Comunidades do Bananal (marcador amarelo) e do Engenho Velho (marcador vermelho) com foco de transmissão de leishmaniose visceral e a área urbana da Região Administrativa do Lago Norte representadas por Varjão (marcador laranja) e Lago Norte (marcador verde) (Figura 1).

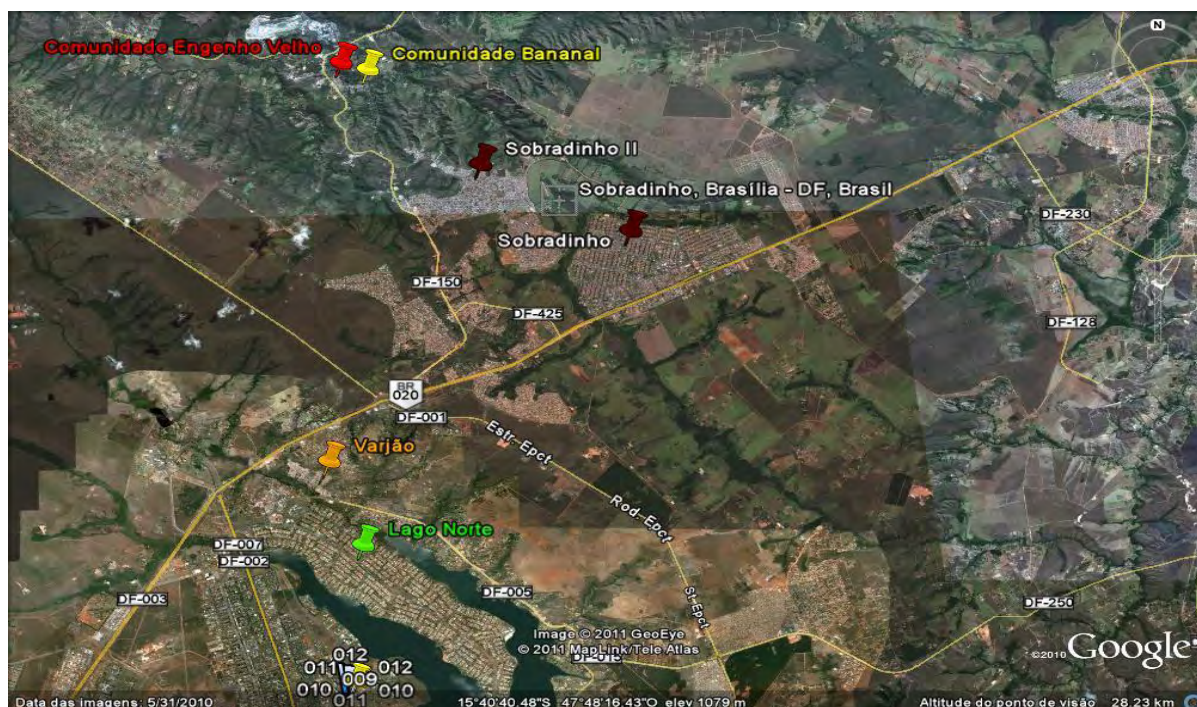


FIGURA 01 - Foto aérea, obtida por satélite, mostrando as regiões do distrito federal: Lago Norte (marcador verde), Varjão (marcador laranja), Sobradinho (marcador marrom), Comunidade Bananal (marcador amarelo) e Comunidade Engenho Velho (marcador vermelho)

Fonte: Google maps, (2011)

A comunidade em estudo é conhecida como Bananal e Engenho Velho, que compõe a comunidade Fercal, que possui em média 20 mil famílias e está dividida em 12 comunidades e faz parte da região administrativa de Sobradinho II. A região possui uma população de 71.805 habitantes, sendo 47.8% do sexo masculino e 52.2% do sexo feminino, está localizada em uma área de 285,00 Km² (Figura 2), (CODEPLAN, 2006).



FIGURA 02 - Foto aérea, obtida por satélite, mostrando as regiões de Sobradinho II Comunidade Bananal (marcador amarelo) e Engenho Velho (marcador vermelho)

Fonte: Google maps, (2011).

A Fercal era uma antiga fazenda que foi dividida em pequenas chácaras e depois em lotes, onde no decorrer dos anos foram se formando pequenas comunidades. A região é cortada por um manancial que é habitualmente freqüentado para atividades de lazer, higiene pessoal e de uso domestico (Figura3).



FIGURA 3 - Foto córrego localizado na Comunidade do Bananal

A outra área do estudo foi a região administrativa do Lago Norte conhecida como RA XVIII, composta pelo Setor de Mansões do Lago - SML, Setor de Habitação Individual Norte - SHIN, Varjão e Área Comercial que possui uma população de aproximadamente de 23.000 habitantes sendo que 47.8% são do sexo masculino e 52.2% do sexo feminino com área total de 64.60 Km². A Região é formada apenas por área urbana, e se situa a 8 km de Brasília e 16 km de Sobradinho (Figura 4), (CODEPLAN 2006).

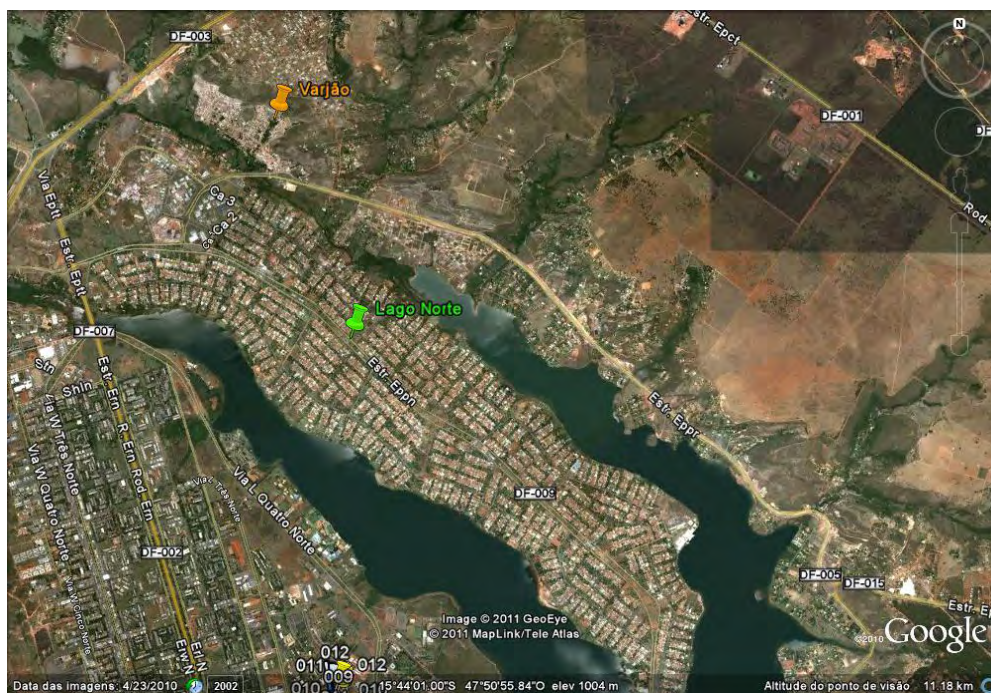


FIGURA 04 - Foto aérea, obtida por satélite, mostrando as regiões de Lago Norte (marcador verde) e Varjão (marcador laranja)

Fonte: Google maps, (2011)

4.2 Local e período da experimentação

O trabalho foi realizado entre 2008 a abril de 2010, sendo que os cães (*Canis familiaris*) incluídos no estudo foram obtidos nas comunidades do Bananal, Engenho Velho, Lago Norte e Varjão e as amostras foram processadas no laboratório de leishmaniose da Diretoria de Vigilância Ambiental do Distrito Federal DIVAL/SES/GDF– DIVAL.

4.3 Animais utilizados no estudo

Para definição do número de animais para a coleta de sangue foi estimada uma população canina na área com base na ultima cobertura vacinal contra raiva nas duas Regiões Administrativas do estudo. A partir da definição da amostra, foi realizado um inquérito censitário canino casa a casa onde todos os cães foram examinados e realizou – se coleta de sangue dos mesmos. Foi estudado quatro regiões sendo um total de 5524 cães.

4.4 Colheitas do material

Inicialmente os proprietários dos animais foram esclarecidos quanto à finalidade do estudo e solicitados a responderem a um questionário (Anexo I). Nestes questionários foi registrada a identificação do animal, nome do proprietário e local de moradia, assim como sexo, idade, raça, estado de saúde. Em sequência os animais foram submetidos ao exame clínico e manifestações como alopecia, onicogribose, ceratoconjuntivite, lesões cutâneas que permitem definir o quadro clínico da leishmaniose visceral canina em assintomático e sintomático.

Em seguida, os animais foram contidos com mordaça de nylon adequada para cada porte, para as colheitas de sangue, a qual foi realizada por venipunção jugular ou cefálica utilizando – se solução de álcool iodado para anti-sepsia, agulhas descartáveis (0,70 x 25 mm) e seringas descartáveis de cinco mL.

Foram colhidos em média três a cinco mL de sangue venoso, que foram transferidos para tubo estéril, sem EDTA identificado com um número de acordo com a ficha clínica individual do animal. Esses tubos foram acondicionados em caixas térmicas com gelo seco até o laboratório. Imediatamente após a chegada ao laboratório as amostras foram centrifugadas a 3.000 rpm durante cinco minutos para obtenção do soro. Depois de centrifugado, o soro foi separado transferidos para *ependorfs* identificados de acordo com a ficha individual de cada cão e estocados em freezer a -4°C.

4.5 Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico para detecção da leishmaniose canina foi a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), utilizado para a detecção de anticorpos contra *Leishmania* em soros de cão. A prova consiste na reação de soros com parasitas (*Leishmania*), fixados em lâmina de microscopia. Numa etapa seguinte, utilizou-se um conjugado fluorescente, para evidenciação da reação. Foram utilizados os *kits* de reagentes produzidos pelo laboratório Bio-Manguinhos (FIOCRUZ) adquirido e distribuído nacionalmente pelo Ministério da Saúde.

Os exames de RIFI foram processados a partir das seguintes diluições: 1:40, 1:80, 1:160, 1:320, 1:640, 1:1280, 1:5120 na comunidade do Bananal e Engenho Velho. As amostras oriundas do Lago Norte foram feitas nas diluições de 1:40, 1:80.

A leitura foi realizada com auxílio de microscópio que utiliza incidência de luz azul e ultravioleta, sendo considerados reagentes os soros com títulos $\geq 1:40$, que apresentaram fluorescência; e não reagentes os soros que apresentaram ausência de fluorescência tomando-se como referência os soros controle positivo e negativo que foram incluídos em cada lâmina. A interpretação dos resultados foi conforme normas do programa do Ministério da Saúde (BRASIL, 2006).

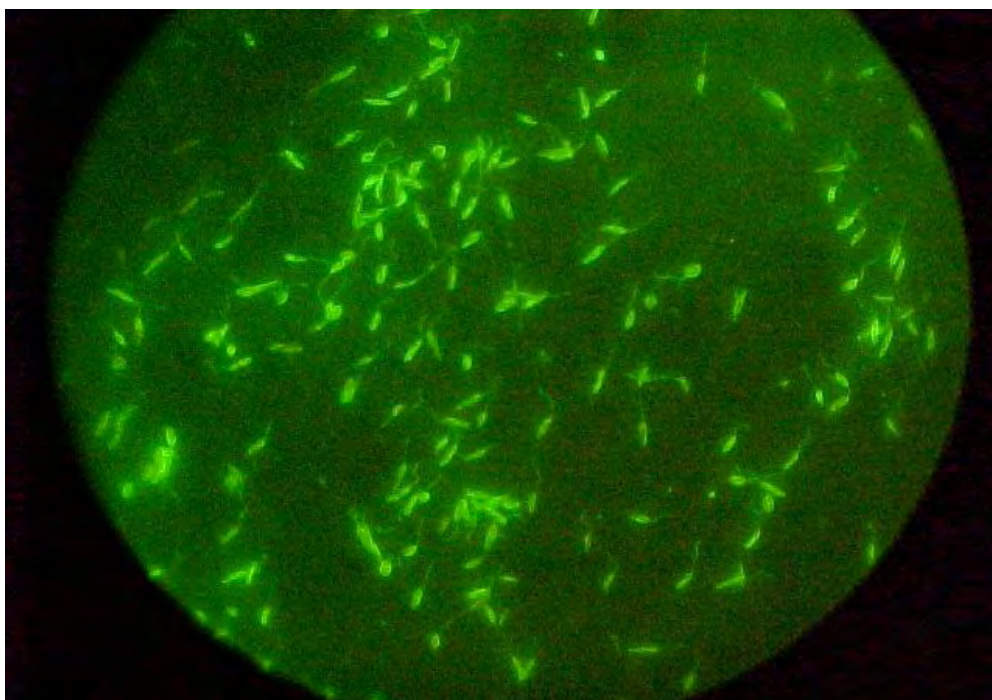


FIGURA 05 - Fotomicrografia de *Leishmania* sp. evidenciada pela técnica de reação de imunofluorescência indireta (400X)

4.6 Análises Estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do software R (R Development Core Team, 2011), utilizando a função glm (Fitting Generalized Linear Models) para estimar os modelos de regressão logística. Também foi utilizada a função logistic.display (Tables for Multivariate Odds Ratio) do pacote epicalc (VIRASAKDI, 2011).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O inquérito censitário dos cães iniciou na Comunidade do Bananal, iniciando em uma residência com uma criança acometida pela LV, e a partir desta Comunidade, foi expandido para outras áreas, totalizando quatro localidades avaliadas. Ao final do inquérito, foram coletas 6659 amostras onde o Varjão representou 4,08% (272/6659) das amostras, 5,69% (379/6659) no Engenho Velho, o Bananal representou 6,86% (457/6659) das amostras e 83,36 % (5551/6659) no Lago Norte.

TABELA 1 - Taxa de prevalência e variáveis epidemiológicas associadas à soropositividade canina para *Leishmania* sp. nas regiões do Varjão, Engenho Velho, Bananal e Lago Norte 2008 a abril de 2010

Variáveis	Prevalência (%) P/T	Df	Deviance	Resid.	Df	Resid.	Dev	P(> Chi)
Localidade		NULL			5395		4988.1	
Varjão	6,66% (17/255)							
Engenho Velho	13,13% (44/335)							
Bananal	15,40% (61/396)							
Lago Norte	22,32%(1013/4538)							
Idade								
Em até 1ano	10,90% (70/643)							
>1 ano a 6 anos	22,40% (619/2763)							
>6 anos	24,00% (297/1236)							
Clinica								
Sim	30,31 % (238/785)							
Não	18,61% (846/4544)							
Situação Domiciliar								
Preso	20,86% (1032/4946)							
Solto	13,00% (48/369)							
Sexo								
Fêmea	19,77% (551/2786)							
Macho	21,36 % (584/2733)							
Raça								
SRD	18,06% (213/1179)							
Outras Raças	21,21% (922/4345)							

*Signif. Codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Fonte: DIVAL/SES-GDF

Observa-se que a menor prevalência de 6,66% (17/255) ocorreu no Varjão e quando comparadas com as outras áreas em estudo verifica – se diferença significativa com o Engenho Velho, o Bananal e o Lago Norte com taxa de

prevalências de 13,13% (44/335), 15,40% (61/396) e 22,32% (1013/4538) respectivamente.

Os resultados encontrados nas localidades do Bananal e Engenho Velho foram semelhantes aos resultados registrados por CAMARGO-NEVES et al. (2001), que verificaram 12% de prevalência em cães do município de Araçatuba – SP. A prevalência 22,32%(1013/4538) obtida no Lago Norte, neste estudo, se aproxima dos resultados de RIBEIRO (2007), que realizou um trabalho em Sobradinho II – DF, e obteve 24,5% de prevalência e também de SILVA et al.(2005), que observaram 25% de prevalência em cães do município de Guaratiba – RJ.

No estado de Minas Gerais, GOMES (2007) observou 10,8% no município de Varzelândia e LOPES (2009) encontrou prevalência de 9,2%, em Belo Horizonte. Estes dados são superiores aos dados do Varjão e inferiores aos do Engenho Velho, Bananal e Lago Norte.

Acrescenta-se ainda, que os dados diferem das prevalências obtidas por BARBOSA et al. (2010) no Maranhão de 67%; por FREHSE (2008) no Paraná de 0% e por ALMEIDA et al. (2009) no Mato Grosso de 3,4%.

A diferença de prevalência estimada obtida pelos diferentes autores em relação à prevalência deste estudo pode atribuída ao método de seleção dos cães, as variações ambientais nas áreas dos estudos entre diversos fatores. Enquanto alguns estudos anteriores foram censitários, igualmente como os de RIBEIRO (2007), outros foram realizados por amostragem como o de BARBOSA (2010). Deve-se ponderar que neste ultimo tipo de pesquisa é sempre importante considerar a possibilidade de ocorrência de viés de seleção, que pode levar a super ou subestimação da prevalência.

Outro fator que pode ser apontado em relação as diferenças da prevalência observada nas diversas regiões do Brasil, pode ser atribuída a população de flebotomíneos que apresenta variação sazonal, predominado nos períodos do ano de mais alta temperatura e umidade relativa do ar, que coincidem com o pico da transmissão da infecção da LV (BARATA et al. 2004).

Outra explicação para variação na taxa de prevalência é o uso de métodos diagnósticos com diferentes sensibilidades e especificidades para a definição de caso ou pelo uso de lotes diferentes dos *kits*. Neste estudo foram utilizados os *kits* de reagentes produzidos pelo laboratório Bio-Manguinhos (FIOCRUZ) adquirido e distribuído nacionalmente pelo Ministério da Saúde.

TABELA 2 - Variáveis epidemiológicas associadas à soropositividade canina para *Leishmania* sp. nas regiões do Varjão, Engenho Velho, Bananal e Lago Norte 2008 a abril de 2010

Variáveis	OR	IC 95%	P
Localidade			
Varjão	-	-	-
Engenho Velho	1,09	0,57 - 2,05	7,9957
Bananal	2,13	1,15 - 3,90	1,4856
Lago Norte	3,16	1,86 - 5,39	2,2809
Idade			
Media 1 a 6 anos	1,98	1,51-2,59	6,5856
Velha > 6 anos	1,87	1,40 - 2,50	2,1509
Sintoma			
Sim	2,1	1,73 - 2,54	2,5683
Não			

Resultados estatisticamente significativos (P>0,05)

Fonte: DIVAL/SES-GDF

Ao se analisar a região notou – se que a localidade do Engenho Velho apresenta uma chance de 1,09 vezes mais de cães apresentarem a infecção o Bananal 2,13 e o Lago Norte 3,16 em relação ao Varjão (Tabela 2).

Ao se analisar a região separadamente notou - se que não ocorreu nenhuma diferença significativa no modelo logístico entre a região varjão e a bananal.

TABELA 3 – Distribuição dos possíveis fatores de risco relacionado a transmissão da leishmaniose canina Lago Norte 2008 a abril de 2010

	Df Deviance	Resid. Df	Resid. Dev	P(> Chi)
NULL	-	131	125.17	-
Arborizado	4.5152	130	120.66	0.03360 *
Horta	5.2294	129	115.43	0.02221 *

*Signif. Codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Fonte: DIVAL/SES-GDF

Na região do Lago Norte as residências que continham horta e residência arborizada apresentaram diferenças ($p < 0,05$) entre os tipos de variáveis do estudo (Tabela 3).

Ao analisar os dados pelo *Odds Ratio* (OR) (Tabela 4) verificou-se que a presença da hortas e residências arborizadas foram desfavoráveis ao desenvolvimento vetorial e conseqüentemente da manutenção da doença. Pode-se observar que as residências que não tinham horta apresentaram nove vezes mais chance de ter cão reagente em relação às residências que possuíam horta.

TABELA 4 - Resultados de uma análise de regressão logística multivariada de fatores de risco para transmissão da leishmaniose visceral canina Lago Norte 2008 a abril de 2010

	OR	lower95ci	upper95ci	Pr(> Z)
Arborizado	1.5	0.1560301	14.42029	0.72548101
Horta	9.0	1.3990804	57.89517	0.02069191

Este fato pode ser explicado pelo manejo ambiental que é realizado nestas regiões, pois são propriedades que fazem limpezas e possuem manuseios adequados de material orgânico nas suas residências. No entanto, estes resultados foram diferentes dos obtidos nos estudos de ALMEIDA et al. (2009), os quais observaram que a proximidade da moradia dos cães com matas e vegetações podem ser apontados como fatores de risco para a infecção por *Leishmania* sp..

Ao analisar a comunidade Engenho Velho, a única inclusão significativa no modelo logístico foi da variável horta (Tabela 5).

TABELA 5 - Distribuição dos possíveis fatores de risco relacionado a transmissão da leishmaniose canina Engenho Velho 2008 a abril de 2010

	Df	Deviance	Resid. Df	Resid. Dev	P(> Chi)
NULL	-	170	145.78	-	-
Horta 1	4.157	169	141.62	0.04146 *	

*Signif. Codes: 0 '****' 0.001 '***' 0.01 '**' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Fonte: DIVAL/SES-GD

Diferente da região do Lago Norte, os cães da comunidade do Engenho Velho que possui horta apresentaram 12 vezes mais chance de se infectar pela *Leishmania sp.* do que os cães das residências que não tinham hortas. Este achado esta em acordo com ALMEIDA et al. (2009), e pode estar associado a ambientes de modificação recente, com a presença de matéria orgânica em quantidade favorável ao desenvolvimento vetorial e consequente manutenção da doença (Tabela 6).

TABELA 6 - Resultados de uma análise de regressão logística multivariada de fatores de risco para transmissão da leishmaniose visceral canina Engenho Velho 2008 a abril de 2010

	OR	(95%CI)	P(Wald's test)	P(LR-test)
Horta: Sim	12	(1.05,137.54)	0.046	0.041

Resultados estatisticamente significativos ($P > 0,05$)

Fonte: DIVAL/SES-GDF

Segundo SUNDAR & RAI (2002), uma das principais limitações da RIFI é a ocorrência de reações cruzadas, principalmente com a doença de Chagas e também com a Leishmaniose Tegumentar (BRASIL, 2006). Os antígenos utilizados nos testes diagnósticos de RIFI e ELISA são geralmente derivados de promastigotas de cultura, parasitos intactos ou moléculas solúveis. Estes antígenos apresentam reações cruzadas com outras espécies da família *Trypanosomatidae*, e mesmo com microrganismos filogeneticamente distantes. Assim por ser o primeiro estudo em área de transmissão para LVC, houve a preocupação em fazer o máximo de titulação nos espécimes clínicos das amostras. Referendando esta informação destaca – se o estudo de LUCIANO et al.(2009) em estudo na cidade de Bauru – SP, encontraram positividade sorológica tanto para *Leishmania spp.* quanto para *T.cruzi*, demonstrando uma grande incidência de reações cruzadas nos animais avaliados.

TABELA 7 – Resultado do teste indireto RIFI por titulação para *Leishmania sp.*, animais reagentes e titulação ao teste indireto de Imunofluorescência, nas Comunidade Bananal, Engenho Velho, Varjão e Lago Norte 2008 a abril de 2010

Bananal			Engenho Velho			Varjão			Lago Norte		
Titulação	Reagentes	%	Titulação	Reagentes	%	Titulação	Reagentes	%	Titulação	Reagentes	%
1:40	32	52,46	1:40	27	61,36	1:40	12	70,59	1:40	571	56,37
1:80	24	39,34	1:80	15	34,09	1:80	5	29,41	1:80	442	43,63
1:160	1	1,64	1:160	0	0	1:160	0	0	1:160	0	0
1:640	2	3,28	1:640	0	0	1:640	0	0	1:640	0	0
1:1280	1	1,64	1:1280	0	0	1:1280	0	0	1:1280	0	0
1:2560	0	0,00	1:2560	2	4,55	1:2560	0	0	1:2560	0	0
1:5120	1	1,64	1:5120	0	0	1:5120	0	0	1:5120	0	0
Total	61	100,00		44	100,00		17	100,00		1013	100,00

Fonte: DIVAL/SES-GDF.

Por se tratar do primeiro caso autóctone de leishmaniose visceral canina na região e por ser a primeira experiência em inquérito canino nestas duas comunidades foi decido realizar a titulação máxima dos soros reagentes nas comunidades do Bananal e Engenho Velho em Varjão e Lago Norte procedeu - se até a titulação de 1:80.

Como exposto na Tabela 7, detectaram-se 52,46% (32/61), 61,36% (27/44), 70,59% (12/17) e 56,37% (571/1013) na titulação 1:40 nas localidades Bananal, Engenho Velho, Varjão e Lago Norte, respectivamente. RIBEIRO (2007) em seu trabalho encontrou 10,25% em Sobradinho II – DF.

Com a resposta sorológica de 1:80 foram encontrados 39,34% (24/61), 34,09% (14/44), 29,41% (5/17) e 43,63% (442/1013) nas localidades Bananal, Engenho Velho, Varjão e Lago Norte, respectivamente que foram diferentes de RIBEIRO (2007) que encontrou 14,20% de cães com a titulação 1:80.

Em relação às titulações mais altas foi encontrado 4,55% (2/44) no Engenho Velho e com a titulação de 1:5120 foi encontrado 1,64% (1/61) na Comunidade de Bananal.

Torna – se importante ressaltar que o trabalho aqui conduzido deve ter como base o conhecimento da população canina da área, como: sexo, idade, raça, situação domiciliar, situação de uso, objetivando o conhecimento do seu perfil e da

dinâmica populacional, possibilitando a caracterização da reposição natural destes animais na natureza a partir das suas condições de vida.

Na região do estudo 12,66% (713/5628) da população canina trabalhada tinham idade até um ano, considerada como população jovem, 60,09% (3382/5628) tinha um a seis anos, considerados como população média e 27,23% (1533/5628) tinham idade superior a seis anos corresponde a animais idosos.

Ao se avaliar a prevalência, por idade observa-se que a faixa etária jovem apresenta 10,90% (70/643) de reagentes a idade média um a seis anos com 22,40% (619/2763) de animais sororreagentes e a faixa etária superior a seis anos de idade com 24,02% (16/69) (Tabela 1).

A idade dos animais é um fator primordial para caracterização da população de uma área auxiliando no conhecimento da dinâmica da taxa de renovação da população. Uma população muito nova demonstra uma taxa de renovação alta, sendo que a partir desta constatação devem ser considerados os fatores que influenciam para a ocorrência da mesma.

A soropositividade para LVC foi encontrada em todas as faixas etárias, verificando – se que animais com idade média possuem 1,98 de chances de adoecerem em relação à idade nova, e que animais mais velhos apresentam 1,87 de chances de adoecerem em relação à idade jovem, não tendo sido verificado diferença significativa entre as idades média e velha de adoecerem (Tabela 2). Estes resultados diferem do observado por GOMES (2007), FREHSE (2008) e ALMEIDA et al. (2009) em trabalho realizado município de Varzelândia – MG, São José dos Pinhais – PR e Cuiabá – MT.

Procurou-se ainda neste trabalho, distinguir animais que apresentavam alguns sinais ou sintomas característicos das leishmanioses. Dos animais examinados 15,95% (1023/6413) apresentaram algum tipo de alteração clínica, e 84,05% (5390/6413) não apresentam qualquer característica da doença (assintomáticos) (Tabela 1). Portanto, a maioria dos cães da localidade não apresentou quadro clínico característico da leishmaniose, semelhante ao descrito ALMEIDA et al.(2009) com 52% de cães assintomáticos.

Analisando a prevalência segundo a presença e ausência de sinais clínicos verificou-se que 30,31% (238/785) dos animais amostrados eram sintomáticos e 18,61% (846/4544) assintomáticos. Estes resultados diferem do encontrado por BARBOSA et al. (2010), que encontrou maior prevalência de 58,2% em animais

assintomático em estudo no município de São Luis – MA. Ressalta-se ainda que os animais com sintomas apresentam 2,1 de chance de adoecerem em relação aos animais que não possuem sintomas (Tabela 2).

Os principais sinais clínicos observados nos animais positivos para a doença foram alopecia nos olhos, com 31% (4/13), seguido de magreza 23% (7/31), onicogrifose 18% (7/38), lesão de pele 15% (6/41), secreção ocular 13% (3/24), e outros sintomas gerou 18% (2/11), na Comunidade Bananal (Tabela 8). Em estudo realizado em São Luis – MA, os sinais clínicos mais freqüentes foram a linfadenopatia localizada sendo o linfonodo poplíteo o mais acometido com 27 cães 96,4%, além de úlceras cutâneas 60,7%, onicogrifose 50%, pelo opaco 25%, Ceratoconjuntivite 21,4%, eczema furfuráceo 21,4%, alopecia 14,2% e emagrecimento 10,7% BARBOSA et al.(2010).

Tabela 8 – Resultado do teste indireto RIFI de *Leishmania* sp. cães amostrados, reagente e prevalência segundo alterações clínicas nas Comunidades do Bananal e Engenho Velho 2008 a 2010

Sintomatologia	Cães Amostrados Sintomáticos	Cães Reagentes	Prevalência Bananal	Cães Amostrados Sintomáticos	Cães Reagentes	Prevalência Engenho Velho
Magreza	31	7	23	20	1	5
Lesão de Pele	41	6	15	39	4	10
Onicogrifose	38	7	18	50	6	12
Alopecia nos olhos	13	4	31	9	1	11
Secreção ocular	24	3	13	25	1	4
Outros sintomas	11	2	18	5	0	0
Total	158	29	18	148	13	9

Fonte: DIVAL/SES-GDF

Na Comunidade do Engenho Velho, as principais alterações clínicas foram onicogrifose 12% (6/50), alopecia nos olhos com 11% (1/9), lesão de pele 10% (4/39), magreza 5% (1/20), secreção ocular 4% (1/25) (Tabela 8).

Tais alterações clínicas verificadas estão de acordo com FEITOSA et al. (2000) que encontraram (72%) de onicogrifose e difere daquelas descritas RIBEIRO

(2007), foram lesões cutâneas que incluíam pústulas, úlceras, descamação, paquidermização e hiperpigmentação (35,3%).



FIGURA 6 - Onicogribose e lesão de pele de cão, sem raça definida – SRD

Quando considerada a prevalência dos animais que manifestavam alguns sinais e sintomas que pudessem caracterizar as leishmanioses, observando-se com maior representatividade o emagrecimento e lesão de pele com 25% (1/4) e 14% (2/14) no Varjão. No Lago Norte emagrecimento e alopecia nos olhos com 44% (51/117), e 44% (25/57), seguido de 43% (59/138) com secreção ocular no Lago Norte, além de 0% e 42% (25/59), com outros sintomas nas na Região Varjão e Lago Norte (Tabela 9).

Em estudo realizado em São Luis – MA, BARBOSA et al. (2010) citaram a linfadenopatia localizada (linfonodo poplíteo) acometendo 27 cães (96,4%), úlceras cutâneas 60,7%, onicogribose 50%, pelo opaco 25%, ceratoconjuntivite 21,4%, eczema furfuráceo 21,4%, alopecia 14,2% e emagrecimento 10,7%.

TABELA 9 – Resultado do teste indireto RIFI de *Leishmania* sp. cães amostrados, reagente e prevalência segundo alterações clínicas no Varjão e Lago Norte 2008 a 2010

Sintomas	Cães Amostrados	Cães Reagentes	Prevalência Varjão	Cães Amostrados	Cães Reagentes	Prevalência Lago Norte
Magreza	4	1	25	117	51	44
Lesão de pele	14	2	14	302	100	33
Onicogribose	16	0	0	189	58	31
Alopecia nos olhos	2	0	0	57	25	44
Secreção ocular	5	0	0	138	59	43
Outros sintomas	0	0		59	25	42
Total	41	3	7	862	318	37

Fonte: DIVAL/SES-GDF

Ao se avaliar relação existente entre machos e fêmeas, observou - se do total de 6654 animais que 50,15% (3337/6654) eram fêmeas e 49,84% (3317/6654) eram machos a proporção relatada por FREHSE (2008) que encontrou 59,89% de machos e 40,11% de fêmeas em São José dos Pinhais – PR.

Quanto à prevalência de reagentes segundo o sexo, observou-se que 21,36% (584/2733) eram machos e 19,77% (551/2786) fêmeas ($p>0,05$) (Tabela 1).

Verificou que o risco de infecção para LVC é semelhante para ambos os sexos resultado que estão de acordo com o relatado por GOMES (2007) que encontrou a prevalência de 12.9% nos machos e 8.04% nas fêmeas e também com ALMEIDA et al. (2009), que não apresentou diferenças significativas. Entretanto diferente das citações de BARBOSA et al. (2010) que verificaram maior prevalência nas fêmeas com 75,5%.

Quanto à situação domiciliar esta informação foi coletada com o objetivo de caracterizar o animal quanto à supervisão pelo proprietário e restrição de acesso a rua e contato com outros animais. Constatou – se que 6,52% (417/6395) da população canina estudada vive solto e 93,47% (5978/6395) preso.

Os cães reagentes que vivem soltos apresentaram uma prevalência 13,00% (48/396), enquanto animais que vivem presos a prevalência verificada foi de 20,86% (1032/4946), sem diferença significativa entre os cães.

A prevalência relativa a situação domiciliar foi semelhante a detectada por ALMEIDA et al. (2009), e diferente do descrito por BARBOSA et al. (2010), que resultaram prevalência de 71,9% para cães soltos e 60,4% para cães presos no município de São Luis do Maranhão.

Nas localidades estudadas, foram encontrados 20,9% (1392/6659) animais sem raça definida (SRD) e 79,09 % (5267/6659) dentre outras raças, diferindo de FREHSE (2008) que encontrou 63,19% de animais sem raça definida.

Ao se considerar a prevalência por raça verificou – se soropositividade de 18,06% (213/1179) nos cães SRD e 21,21% (922/4345) para animais com raças, Nenhuma raça foi determinada como predisposta a infecção por *Leishmania* sp., conforme relatado por ALMEIDA(2009) e BARBOSA et al. (2010), embora trabalhos como os FRANÇA – SILVA (2003) as raças Boxer e Cocker spaniel como susceptíveis a adquirirem a doença.

6 CONCLUSÕES

A leishmaniose visceral canina é mais prevalente na região do Lago Norte, embora esteja presente em diferentes regiões do Distrito Federal e tem como fatores de risco a idade, cães sintomáticos a presença de horta na comunidade com pior manejo ambiental.

REFERÊNCIAS

- 1 - ALENCAR, J.E.; Leishmaniose Visceral no Brasil. **Revista de. Medicina da Universidade Federal do Ceará.** v,17/18, p.129-148. 1977 / 78.

- 2 - ALMEIDA, A.B.P.F.; FARIA, R.P.; PIMENTEL,M.F.A.; et. al. Inquérito soroepidemiológico de leishmaniose canina em áreas endêmicas de Cuiabá, Estado de Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** v. 42 p.156-159, 2009.

- 3 - ALTES, J.; SALAS, A; RIERA, M.; UDINA, M.; GALMES, A.; BALANZAT,J. BALLESTEROS, A.; BUIADES, J.; SALVA,F. & VAILALONGA,C. Visceral Leishmaniasis: another H.I.V. associated opportunistic infection. **Report of eight cases and review of literature. AIDS** v.5, p.201-207. 1991.

- 4 - ALVES, W. A. Estudo Epidemiológico da Leishmaniose na área urbana do município de Viçosa: prevalência canina e descrição de casos humanos. **Universidade Federal Viçosa.** 129p., 2001.

- 5- BADARO & DUARTE. Leishmaniose Visceral (Calazar). **Tratado de Infectologia.** 2002. ed: Atheneu. 2. ed. São Paulo. 2002.

- 6 - BANETH, G.; SHAW, S.E. Chemotherapy of canine leishmaniosis. **Veterinary Parasitology, Amsterdam,** v. 106, p. 315-324, 2002.

- 7 - BARATA R.A.; FRANÇA-SILVA, J.C.; COSTA, R.T.; FORTES – DIAS, C.L.; SILVA, J.C.; PAULA, E.V.; PRATA, A.; MONTEIRO, E.M.; DIAS, E.S. Phebotomine sand flies in porteirinha, an área of American Visceral Leishmaniasis transmission in the state of Minas Gerais, Brasil. Mem. **Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro,** v.99 p. 481-487, 2004.

8 - BARBOSA, D.S.; ROCHA. A.L.; SANTANA.A.A.;et. al. Soroprevalência e variáveis epidemiológicas associadas à leishmaniose visceral canina em área endêmica no município de São Luís, Maranhão, Brasil, **Ci. Anim. Bras., Goiânia**, v. 11, n. 3, p. 653-659, jul./set. 2010.

9 - BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 120 p.**

10 - CAMARGO-NEVES, V.L.F.; KATZ, G.; RODAS, L.A.C. et al. Utilização de ferramentas de análise espacial na vigilância espacial de leishmaniose visceral americana – Araçatuba – São Paulo, Brasil, 1998-99. **Cad. Saúde Pública**, v.17, n.5, p.1263-1267, 2001.

11 - CERF, B.J.; JONES, T.C.; BADARÓ,R.; SAMPAIO,D.; TEIXEIRA, R. & CORREDOR,A.; GALLEGU, J.F.; YOUNG, D.G.; TESH, R.B.; MORALES, A.; CARRASQUILLA, C.F.; KREUTZER, R.D.; BOSHELL, J.; PALAU, M.T.; CACERES, E. & PELAEZ, D., Epidemiology of visceral leishmaniasis in Colombia. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 40, p.480-486, 1987.

12-CODEPLAN, [online] Disponível em: <http://www.codeplan.df.gov.br/sites/200/216/00000050.pdf>, Acesso em: 07 jun. 2011.

13 - CORRÊA & CORRÊA. Leishmanioses e Amebíases. **Enfermidades Infecciosas dos Mamíferos Domésticos**. São Paulo Ed.: MEDSI. 2° edição. p.714-716,1992.

14 – DEANE, L.M. Leishmaniose visceral no Brasil. Estudos sobre reservatórios e transmissores no Estado do Ceará. Rio de Janeiro. **Serviço Nacional Educação Sanitária**, 1956.

15 - FAUST,E.C.; RUSSEL,P.F. & JUNG,R.C.; Craig & Faust (ed.) Parasitologia Clínica. **Ed. Salvat S.A. México** 888p., 1974.

16 - FEITOSA, M.M.,et al. Aspectos clínicos de cães com leishmaniose visceral no município de Araçatuba-São Paulo(Brasil). **Clínica Veterinária**, v5, n.28, p.36-42, 2000.

17 – FEITOSA, M.M.; IKEDA, F.A.; LUVIZOTTO,M.C.R.; PERRI,S.H.V. Aspectos clínicos de cães com leishmaniose visceral no município de Araçatuba – São Paulo (Brasil). **Clinica Veterinária** v28, p. 36 – 44. 2000.

18 – FREHSE, M.S.; Vigilância ativa da leishmaniose visceral canina no município de São José dos Pinhais – PR. **Universidade Federal do Paraná**, p.76, 2008.

19 - GARCIA, F. A. I.; MARCONDES, M.; Métodos de diagnostic da Leismaniose visceral canina. **Clínica Veterinária**, São Paulo, ano 12, n. 71, p. 34- 39, 2007.

20 – GOMES, L.V; Prevalência da leishmaniose visceral canina na zona rural do município de Varzelândia, Minas Gerais, Brasil 2005. **Universidade Federal Ouro Preto**, p.145, 2007.

21-HARISSON,L.H.; NAIDER,T.G.; DREW,J.S.; DE ALENCAR J.E. &PEARSON,R.D. Reciprocal relationships between undernutrition and parasitic disease visceral leishmaniasis. **Review of Infectious Diseases**. V.8, p. 447-453 1986.

22- INIESTA, L.; FERNANDEZ-BARREDO, S.; BULLE, B. et al. Diagnostic techniques to detect cryptic leishmaniasis in dogs. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, Washington, D.C.**, v. 9, p. 1137-1141, 2002.

23 - INSTITUTO ADOLFO LUTZ, II INFORME TÉCNICO: Leishmaniose visceral americana. **Secretaria de Estado da Saúde do Estado de São Paulo**, ed. MS, p.13-14, 2003.

24 - JESUS, J. R. de ; ARAÚJO, F. A. Leishmaniose tegumentar americana: uma visão da epidemiologia da doença na Região Sul. **Clínica Veterinária**, São Paulo, ano 12, n. 71, p. 82-84, 2007.

25 - KONTOS, V.J.; KOUTINAS, A.F. Old world canine leishmaniasis. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.15, n.7, p.949-959, 1993.

26 - LAINSON, R.; SHAW, J.J. Evolution, classification and geographical distribution. In: PETERS, W.; KILLICK-KENDRICH, R. 2 ed. *The leishmaniasis in biology and medicine*. London: Academic Press. p.1-121, 1987.

27 - LAINSON, R.; DYE, C.; SHAW, J.J.; MACDONALD, D.W.; COURTENAY, D.O.; SOUZA, A.A. & SILVEIRA, F.T. Amazonian Visceral Leishmaniasis distribution of the vector *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) in relations to the fox *Cerdocyon thous* (Linn.) and the efficiency of this reservoir host as a source of infection. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.85:p.135-137.1990.

28 - LITTLE, S. E. Protozoal Diseases. Leishmaniasis. In GREENE, C. E. Infectious diseases of the dog and cat. 3th ed. St. Louis: Saunders, p. 685-698, 2006.

29 - LUCIANO R.M; LUCHEIS S. TRONCARELLI M.Z.; LUCIANO D.M.; LANGONI H. Avaliação da reatividade cruzada entre antígenos de *Leishmania* spp e *Trypanosoma cruzi* na resposta sorológica de cães pela técnica de imunofluorescência indireta (RIFI) **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v. 46, n. 3, p. 181-187, 2009.

30 - LUVIZOTTO, M. C. R. Diagnóstico da leishmaniose visceral canina. **Manual Técnico Leishmaniose Visceral Canina**. Fort Dodge. p. 28-29, 2006.

31 - MARZOCHI, M. C. A.; COUTINHO, S. G.; SOUZA, W. J.; AMENDOEIRA, M.R., 1981. Leishmaniose Visceral (Calazar). **Jornal Brasileiro de Medicina**. v 41, p.61-84, 1981.

32 - MAURICIO, I. I.; STOHARD Jr, MILES M. A. The strange case of leishmania chagasi. **Parasitol Today**; v. 16, p. 188-9, 2000.

33 - MONTEIRO, O. S.; LACERDA, M. M. ARIAS J. R. Controle da leishmaniose visceral no Brasil. **Ver. Soc. Bras. Méd. Trop.**, v.27, p.67-72,1994.

34 - NOWAK,R.M.; PARADISO,J.L. Walker's Mammals of the World. Marsupialia. Volume I Fifth edition. Baltimore and London: **The Johns Hopkins University Press**. p.10 – 113,1991.

35 - PEARSON,R.D.; COX, G.; JERONIMO,S.M.B.; CASCATRANE,J. DREW, J.S.; EVANS,T. & ALENCAR,J.E. Visceral Leishmaniasis: a model for infectioninduced cachexia. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** v.47, p. 8-15, 1992.

36 - QUEIROZ, N. M. G. P.; SILVEIRA, R. C. V.; PAULAN, S. C.; TENORIO, M. S.; TASCA, K. I.; LIMA, F. L.; STARKE-BUZETTI, W. A.; NEVES, M. F.; NORONHA Jr, A. C. F.; MACHADO, R. Z.; OLIVEIRA, T. M.; OLIVEIRA, F. P. Exame parasitológico e histopatológico realizados em peles de cães infectados com Leishmaniose visceral canina em Ilha Solteira. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA**, Ribeirão Preto, p. 319, 2006.

37 - R Development Core Team (2011). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing,Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.

38 - REY,L. Parasitologia. Parasitos e Doenças Parasitárias do Homem nas Américas e na África. **2a edição. Ed. Guanabara Koogan**. 731p,1991.

39 - REY, L. Parasitologia *O Complexo "Leishmania donovani" e a Leishmaníase Visceral*. **3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan**, p. 253-265, 2001.

40 – RIBEIRO C.R. Aspectos clínicos, epidemiológicos e laboratoriais de cães sororreagentes para leishmaniose visceral, em foco de transmissão no Distrito Federal – DF – Brasil. **Universidade Estadual Paulista**, pag. 93. 2007.

41 - RIBEIRO, V.M. Leishmanioses. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária**. Ano 3, n.11, p.13-14, 1997.

42 - SÃO PAULO (Estado). Secretaria de Estado da Saúde, Superintendência de Controle de Endemias - SUCEN e Coordenadoria de Controle de Doenças - CCD. manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral americana do Estado de São Paulo / **Coordenação Vera Lucia Fonseca de Camargo-Neves - São Paulo: A Secretaria**, 158 p, 2006.

43-SALIMONU,L.S.; OJO-AMAIZE,E.; WILLIAMS,A.I.O.; JOHNSON, A.O.K.COOKIE,A.R.; ADEKUNLE,F.A.; ALM,G.V.; WIGZELL, H.; Depressed natural killer cell activity in children with protein-calorie malnutrition. **Clinical, immunology and Immunopathology** v.24, p.1-7, 1982.

44 - SHERLOCK, I.A.; MIRANDA, J.C.; SADIGURSKY,M. & GRIMALDI Jr. G. Natural infection in the opossum Didelphis albiventris (Marsupialia, Didelphidae) with Leishmania donovani in Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, p. 79, 1984.

45 - SILVA, A.V.M.; PAULA, A.A.; CABRERA, M.A.A. et al. Leishmaniose em cães domésticos: aspectos epidemiológicos. **Cad. Saúde Pública**. v.21, n.1, 2005.

46 - SILVEIRA, F.T. et.al. Leishmaniose Visceral Americana. **Doenças Infecciosas e Parasitárias Enfoque Amazônico**. Belém. Ed.: CEJUP: UFPA. IEC, p. 632-642, 1997.

47-SOUZA,M.A.; SABROZA,P.C.; MARZOCHI,M.C.A.; COUTINHO,S.G.; SOUZA,W.J.S. Leishmaniose Visceral no Rio de Janeiro.1- Flebotomíneos da área de procedência de caso humano autóctone. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** v.76,p.161-168,1981.

48 - SUNDAR, S.; RAI, M. Laboratory diagnosis of visceral leishmaniasis. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 9, n. 5, p. 951-958, 2002.

49 - TRAVI, B.L.; JARAMILLO,C.D.; MONTOYA,J.; SEGURA,I.; ZEA,A.; GONÇALVES,A .& VELLEZ,I.D., Didelphis marsupialis, an important reservoir of Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi and Leishmania (Leishmania) chagasi in Colombia. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** v. 50, p. 557-565, 1994.

50 - Virasakdi Chongsuvivatwong <cvirasak@medicine.psu.ac.th> (2011).epicalc: Epidemiological calculator. R package version 2.12.2.3. <http://CRAN.R-project.org/package=epicalc>.

ANEXOS

Anexo I

N° da ficha: _____ Data da Coleta: _____ Data do resultado: _____

Nome do proprietário: _____

Endereço: _____

Cidade: _____ Localidade: _____

Ponte de referência: _____ Telefone: _____

Quantas pessoas na propriedade: _____ Adultos: _____ Crianças: _____

A quanto tempo o proprietário mora no local: _____

Quantos cães adquiriu durante esse período: _____

Origem desses animais: _____

Nome do animal: _____ Espécie: _____

Raça: _____ Sexo: _____ Idade: _____

Origem do animal: _____ Tempo de permanência no Local: _____

Ocorreu algum deslocamento do animal nos últimos seis meses: () sim () não

Local do deslocamento: _____

O animal é usado para caça: () sim () não

Histórico de saúde :

() emagrecimento Período _____

() lesão de pele Período _____

() unha crescida Período _____

() queda de pelo na região dos olhos Período _____

() secreção ocular Período _____

Existência de animais silvestres no local: () sim () não

Quais: _____

Responsável pelo preenchimento: _____