

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**DIAGNÓSTICO DE SITUAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA LEISHMANIOSE  
VISCERAL CANINA EM RIO VERDE-GO**

**Amanda Carla Acipreste Galvão**

Medica Veterinária

**2016**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**DIAGNÓSTICO DE SITUAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA LEISHMANIOSE  
VISCERAL CANINA EM DE RIO VERDE-GO**

**Amanda Carla Acipreste Galvão**

**Orientador: Prof. Dr. Áureo Evangelista Santana**

**Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Karina Paes Bürger**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária, Área: Medicina Veterinária Preventiva.

**2016**

G182d Galvão, Amanda Carla Acipreste  
Diagnóstico de situação epidemiológica da leishmaniose visceral  
canina em Rio Verde/GO / Amanda Carla Acipreste Galvão. – –  
Jaboticabal, 2016  
xi, 87 p. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de  
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016  
Orientador: Áureo Evangelista Santana  
Coorientadora: Karina Paes Bürger  
Banca examinadora: José Ribamar Privado Filho, Annelise Carla  
Campesi dos Santos, Ana Maria Centola Vidal, Maria Angélica Dias  
Bibliografia

1. Clínica itinerante. 2. Inquérito sorológico. 3. LVC. 4. Saúde. 5.  
TR Dpp@. 6. Zoonoses. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de  
Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:616.993.161:636.7

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –  
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

## **Dados curriculares do autor**

**Amanda Carla Acipreste Galvão** – Filha de Carlos Roberto Acipreste e Luzia Isabel de Oliveira Acipreste, nascida em 23 de fevereiro de 1980, em Barra de São Francisco/ES, é Médica Veterinária, formada em julho de 2004, pela Faculdade de Castelo (FACASTELO) no Município de Castelo/ES. Concluiu mestrado em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Viçosa (UFV) sob a orientação do Prof. Dr. Eduardo Paulino da Costa. Foi contratada pela Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Rio Verde/GO como assessora pedagógica das disciplinas: Laboratório Clínico, Fisiologia da Reprodução dos Animais Domésticos e Epidemiologia higiene e saúde pública de agosto de 2006 a dezembro 2008. Foi admitida como professora efetiva na mesma instituição em Janeiro de 2009, sendo responsável pela disciplina de Laboratório Clínico Veterinário. Ingressou no doutorado em Medicina Veterinária, pela FCAV/Unesp/Jaboticabal/SP, em março de 2012 sob orientação do Prof. Dr. Áureo Santana Evangelista e co-orientação da Prof. Dr<sup>a</sup>. Karina Paes Bürger.

"Cada pessoa que passa em nossa vida passa sozinha, porque cada pessoa é  
única e nenhuma substitui a outra!  
Cada pessoa que passa em nossa vida passa sozinha e não nos deixa só  
porque deixa um pouco de si e leva um pouquinho de nós.  
Essa é a mais bela responsabilidade da vida e a prova de que as pessoas não  
se encontram por acaso."

Carles Chaplin

Dedico ao meu pai celeste que me proporcionou viver este momento.

## **AGRADECIMENTOS**

À todas as pessoas envolvidas: professores, Centro de Controle de Zoonose e Laboratório Central de Goiânia, patrocinadores da clínica veterinária itinerante, os quais contribuíram para que o projeto acontecesse, mas principalmente a classe acadêmica, que não mensurou esforços para tudo ocorresse da melhor forma possível;

À toda a equipe do Laboratório de Imunopatologia do Departamento de Patologia Animal da FCAV/Unesp/Jaboticabal/SP, pelo apoio prestado;

Ao meu orientador Prof. Dr. Áureo Evangelista Santa, por me aceitar como sua orientada;

À minha co-orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Karina Paes Bürger, que me conduziu e me fez acreditar que seria possível, e mais do que isso se comprometeu com o desenvolvimento teórico e prático deste trabalho de corpo e mente. Meu muito obrigada;

À minha família querida, por relevar minhas ausências e me apoiar em todos momentos. Não existem palavras para expressar o amor e gratidão que sinto por vocês.

**Muito obrigada!!!!**

## SUMÁRIO

	Página
CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS.....	iii
PARECER CIRCUNSTANCIADO DO CEP.....	iv
RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	02
3. OBJETIVOS.....	18
3.1 Objetivo geral.....	18
3.2 Objetivos específicos.....	18
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	19
4.1. Local de estudo.....	19
4.1.1. Caracterização da região norte do Município de Rio Verde/GO.....	21
4.2. Diagnóstico de situação epidemiológica da saúde animal, da saúde pública e da saúde ambiental.....	22
4.2.1. Aplicação dos questionários.....	25
4.2.2. Avaliação clínica dos cães.....	25
4.3. Avaliação sorológica.....	26
4.3.1. Prova Sorológica ELISA.....	27
4.3.2. Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI).....	28
4.3.3. Teste imunocromatográfico rápido em dupla plataforma (Dual Path Platform - DPP).....	29
4.4. Geoprocessamento dos domicílios onde foram encontrados animais reagentes nos exames sorológicos ELISA e RIFI.....	30
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31




5.1. Diagnóstico de situação epidemiológica da saúde animal, da saúde pública e da saúde ambiental.....	31
5.1.1. Resultados dos questionários.....	31
5.1.2. Resultados da avaliação clínica dos cães.....	40
5.2. Avaliação sorológica.....	43
5.3. Geoprocessamento dos domicílios onde foram encontrados animais reagentes nos exames sorológicos ELISA e RIFI.....	47
6. CONCLUSÃO.....	49
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	50
6. REFERÊNCIAS.....	57
7. APÊNDICES.....	75
APÊNDICE I - Folder de divulgação da Clínica Itinerante.....	75
APÊNDICE II - Material educativo desenvolvido para conscientização sobre guarda responsável, controle populacional e LVC.....	76
APÊNDICE III - Modelo de termo de consentimento livre e esclarecido aplicado aos moradores participantes do projeto.....	77
APÊNDICE IV - Termo de autorização para avaliação animal assinado pelos proprietários participantes do projeto.....	78
APÊNDICE V - Modelo de questionário ambiental aplicado aos moradores participantes do projeto, preenchido pelos mesmos.....	79
APÊNDICE VI - Modelo de questionário sobre estado sanitário dos animais participantes do projeto, preenchido pelos voluntários.....	83
APÊNDICE VII – Resultados das avaliações sorológicas (ELISA, RIFI e DPP).....	86

## CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

## CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 024193/14 do trabalho de pesquisa intitulado "**Diagnóstico de situação da Leishmaniose Visceral Canina no Município de Rio Verde /GO**", sob a responsabilidade do Prof. Dr. Áureo Evangelista Santana está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 01 de dezembro de 2014.

Jaboticabal, 01 de dezembro de 2014.

  
**Prof.ª Dr.ª Paola Castro Moraes**  
Coordenadora – CEUA

FUNDAÇÃO DO ENSINO  
SUPERIOR DE RIO VERDE -  
FESURV - UNIVERSIDADE DE



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Diagnóstico de situação da Leishmaniose Visceral Canina no Município de Rio Verde-GO

**Pesquisador:** AMANDA CARLA ACIPRESTE GALVAO

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 42900515.1.0000.5077

**Instituição Proponente:** FESURV - Universidade de Rio Verde

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 1.002.185

**Data da Relatoria:** 25/03/2015

**Apresentação do Projeto:**

Trata-se do projeto de doutorado da pesquisadora. A pesquisa consiste em convidar um número de 500 pessoas com idade acima de 18 anos que tenham a guarda de cães e gatos e queiram participar do projeto de extensão Clínica Itinerante, a responder um questionário sobre saúde e higiene de animais. A metodologia estatística será utilizada a análise multivariada.

**Objetivo da Pesquisa:**

**Objetivo primário:** Realizar o diagnóstico de situação da Leishmaniose Visceral Canina no Município de Rio Verde-GO.

**Objetivos secundários:** Realização de trabalho educativo com a população infanto-juvenil em escolas da rede municipal na região de estudo enfocando sobre guarda responsável, controle populacional e a LVC; Realizar o diagnóstico das condições ambientais da região de estudo; Realizar diagnóstico laboratorial da LVC dos cães da região de estudo.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**Riscos:** as entrevistas são realizadas de forma privativa sem exposição do participante, porém pode gerar algum desconforto, podendo o mesmo recusar-se a autorizar e/ou retirar o consentimento sem que sofra penalizações, basta comunicar a pesquisadora ou membro da equipe. Os riscos da participação do animal são mínimos, podendo haver desconforto mediante o

**Endereço:** R. Augusta Bastos, nº 883 - Ed Sis Rio 2º andar

**Bairro:** sala 10 Centro

**CEP:** 75.901-030

**UF:** GO

**Município:** RIO VERDE

**Telefone:** (62)3620-2361

**Fax:** (62)3620-2201

**E-mail:** cep@unirv.edu.br

Continuação do Parecer: 1.002.185

exame clínico e coleta sanguínea.

**Benefícios:** Realizar o diagnóstico de situação da LVC contribuirá em fornecer subsídios para as autoridades de saúde animal e saúde pública na melhoria dos programas de prevalência dessa enfermidade. Não se prevê benefícios diretos aos

participantes, porém, ao participar de uma pesquisa o mesmo pode dar sua opinião, falar de assuntos do seu interesse e com isso pode sentir-se importante, além de acolhida satisfação em participar de uma pesquisa.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Os bairros a serem trabalhados se localizam na região noroeste do Município de Rio Verde – GO. Os mesmos foram apontados pelo Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) com base em maior número de chamados para captura de cães errantes. Os participantes envolvidos responderão questionários padronizados acomodados em cadeiras em um ambiente reservado com enfoque sobre a realidade ambiental de suas moradias. Os mesmos serão instruídos durante o procedimento de que se sentirem algum desconforto ou tipo de constrangimento nas perguntas-abordadas poderão deixa-las em aberta, além de poder deixar a participação em qualquer etapa. Os cães e gatos de sua propriedade serão atendidos pela equipe da clínica médica veterinária, a qual realizará exame clínico e coleta de amostra sanguínea para realização do diagnóstico sorológico ELISA. Os animais que necessitarem de tratamento poderão receber vermífugos, antibióticos e antifúngicos de forma gratuita. Ao final da pesquisa, todo material será mantido em arquivo em um local seguro, por pelo menos cinco anos.

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

Projeto bem escrito e detalhado. TCLE redigido de forma clara e adequada ao público alvo. Os critérios de inclusão e exclusão não foram escritos de forma explícita porém pode-se perceber a escolha da amostra pela localização dos bairros com mais capturas de animais errantes. Ressalta-se que o projeto já possui pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal de Jaboticabal (SP).

**Recomendações:**

Adequar a data (2014) do TCLE para 2015.

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

Projeto aprovado

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Endereço:** R. Augusta Bastos, nº 883 - Ed Sis Rio 2º andar

**Bairro:** sala 10 Centro

**CEP:** 75.901-030

**UF:** GO

**Município:** RIO VERDE

**Telefone:** (62)3620-2361

**Fax:** (62)3620-2201

**E-mail:** cep@unirv.edu.br

FUNDAÇÃO DO ENSINO  
SUPERIOR DE RIO VERDE -  
FESURV - UNIVERSIDADE DE



Continuação do Parecer: 1.002.185

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

RIO VERDE, 27 de Março de 2015

  
Assinado por:

maria de fatima rodrigues da silva  
(Coordenador)

**Endereço:** R. Augusta Bastos, nº 883 - Ed Sis Rio 2º andar

**Bairro:** sala 10 Centro

**CEP:** 75.901-030

**UF:** GO

**Município:** RIO VERDE

**Telefone:** (62)3620-2361

**Fax:** (62)3620-2201

**E-mail:** cep@unirv.edu.br

## DIAGNÓSTICO DE SITUAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA EM RIO VERDE-GO

**RESUMO** – A Leishmaniose Visceral Canina (LVC) preocupa as autoridades sanitárias devido ao aumento de sua incidência nos últimos anos, aliado ao fato da situação epidemiológica da enfermidade ser desconhecida na maioria das regiões. Desta forma, o presente estudo objetou realizar o diagnóstico de situação epidemiológica da leishmaniose visceral canina (LVC) no Município de Rio Verde/GO. Para tanto, a pesquisa foi desenvolvida em bairros pré-definidos da região norte do município com a avaliação das condições das três esferas da saúde (animal, humana e ambiental) relacionadas à LVC, por meio de questionários semiestruturados com a participação dos tutores dos animais; a avaliação clínica dos cães e classificação segundo a sintomatologia; a realização do diagnóstico sorológico (ELISA, RIFI e TR DPP<sup>®</sup>) e o geoprocessamento da localidade dos cães reagentes. Na avaliação das condições da saúde animal, os resultados evidenciaram superpopulação canina, especialmente aqueles animais considerados sem controle de mobilidade e sem supervisão, com trânsito livre, sem assistência médico-veterinária. Com relação à saúde humana, destacou-se o convívio íntimo entre o ser humano e o seu animal de estimação, além do agravante do desconhecimento da enfermidade pela população, de seus mecanismos de transmissão, de controle e de prevenção. Sob o olhar ambiental, observou-se problemas de infraestrutura, sendo a falta de saneamento básico a principal delas, além da presença de árvores frutíferas e animais de produção favorecendo o acúmulo de matéria orgânica, facilitando e promovendo o desenvolvimento do vetor. A classificação segundo a avaliação clínica dos cães reagentes (ELISA e RIFI) foi de 65% (13/20) assintomáticos e 35% (7/20) oligossintomáticos. Na avaliação sorológica, 10,38% (55/530) foram reagentes no ELISA, desses 36,37% (20/55) foram reagentes também na RIFI, e desses todas (17/17) as amostras foram consideradas não reagentes no TR DPP<sup>®</sup>. Os cães positivos no ELISA e RIFI estavam localizados em moradias próximas, reforçando os resultados dos testes. A população, cão e ser humano, e a região estudada apresentam características favoráveis ao desenvolvimento da LVC. Desta forma, existe a necessidade de profissionais capacitados para realizar diagnóstico preciso da enfermidade, iniciando as ações de controle e prevenção, aliado à readequação do protocolo de diagnóstico, pelas autoridades competentes, para as diferentes situações epidemiológicas.

**Palavras-chave:** clínica itinerante, inquérito sorológico, LVC, saúde, TR DPP<sup>®</sup>, zoonoses.

## EPIDEMIOLOGICAL DIAGNOSIS OF CANINE VISCERAL LEISHMANIASIS SITUATION IN RIO VERDE, STATE OF GOIÁS

**RESUMO** – Canine Visceral Leishmaniasis (CVL) is a concern to sanitary authorities due increase on incidence observed recently and lack of knowledge about the disease epidemiological situation in most regions. So, this study focused on to perform epidemiological diagnosis of canine visceral leishmaniasis situation in Rio Verde Municipality, state of Goiás, Brazil. For this purpose, the research was performed in pre-selected neighborhoods in the north region of the municipality embracing all three areas in health (animals, human beings and environment) related to CVL using semi-structured questionnaires to animals' owners, clinical evaluation of animals and classification according to clinical signs, serological diagnosis (ELISA, RIFI and TR DPP<sup>®</sup>) and geospatial analyses of positive dogs. ). A canine overpopulation, especially on those animals that lives free in streets, without supervision of owners and veterinaries were highlighted. In relation to human health, the close contact among humans and animals and the ignorance about this disease epidemiology, prevention and control by the population were shown. About the environmental situation, infrastructural problems, as the needs of basic sanitation, were observed. Also, fruit trees and production animals' presence were observed, which favors organic matter accumulation and allows the vector's development. The clinical classification of the reagents animals (ELISA and RIFI) was 65% (13/20) asymptomatic and 35% (7/20) oligosymptomatic during evaluation on CI. On serological evaluation, 10.38% (55/530) were positive on ELISA and from these animals, 36.37% (20/55) were also positive on RIFI. None of the samples were considered as positive on TR DPP<sup>®</sup>. The animals considered as positives in ELISA and RIFI were located in nearby houses agreeing with the results of serological tests. The human beings and canine populations in the studied areas have favorable characteristics for the development of CVL. So, trained professionals to perform the disease accurate diagnosis, beginning actions to control and prevention, thus a adjustment of diagnostic protocol, by authorities, to different epidemiological situation.

**Keywords:** serological tests, CLV, health, TR DPP<sup>®</sup>, zoonosis.

**LISTA DE TABELAS**

	Página
Tabela 1 - Variáveis relacionadas ao diagnóstico epidemiológico da saúde animal realizado durante a Clínica itinerante nos bairros com a participação de 383 proprietários, Rio Verde/GO, 2015.....	32
Tabela 2 - Variáveis relacionadas ao diagnóstico epidemiológico da saúde pública realizado durante a Clínica itinerante nos bairros com a participação de 383 proprietários, Rio Verde/GO, 2015.....	36
Tabela 3 - Variáveis relacionadas ao diagnóstico epidemiológico da saúde ambiental realizado durante a Clínica itinerante nos bairros com a participação de 383 proprietários, Rio Verde/GO, 2015.....	38
Tabela 4 - Principais sinais clínicos encontrados na avaliação clínica dos animais que foram reagentes nos exames sorológicos ELISA e RIFI durante a Clínica itinerante nos bairros, Rio Verde/GO, 2015.....	41
Tabela 5 - Avaliação sorológica (ELISA, RIFI e DPP) realizada nos soros de 530 cães realizada no Laboratório de Imunoparasitologia do Departamento de Patologia Veterinária da FCAV/Unesp/Jaboticabal/SP, e no Centro de Controle de Zoonoses do Município de Rio Verde/GO, 2015.....	43



## LISTA DE FIGURAS

		Página
Figura 1 -	Localização do Município de Rio Verde/GO na microrregião do sudoeste do estado, onde foi desenvolvido o projeto de pesquisa. Rio Verde/GO, 2015.....	20
Figura 2 -	Região norte do Município de Rio Verde/GO abrangendo os bairros Arco Íris, Dimpe, Céu Azul, Liberdade, Primavera, Maurício Arantes, Nelson Veloso I e II, Serra Dourada, Dom Miguel, Parque dos Girassóis, Pauzanes, Monte Sião e Valdeci Pires, participantes da “Clínica itinerante nos bairros”.....	21
Figura 3 -	Imagens fotográficas da atuação dos universitários do curso de graduação em Medicina Veterinária da Universidade de Rio Verde/Go (UniRV) durante o trabalho de divulgação da Clínica itinerante nos bairros e de conscientização da população infanto-juvenil da região de estudo sobre a LVC, guarda responsável e controle da população canina. A e B universitários caracterizados como cães e gatos e C universitários atuando no teatro de fantoche durante apresentação nas escolas.....	23
Figura 4 -	Imagem da distribuição espacial dos domicílios dos 55 animais considerados reagentes no ELISA (amarelo) e desses os 20 animais considerados reagentes também na RIF (vermelho). A) Visão geral da distribuição dos animais considerados reagentes na avaliação sorológica. B) Identificação individualizada dos animais considerados reagentes na avaliação sorológica. Rio Verde/GO, 2015.....	47

Figura 5 - Imagem da distribuição espacial dos domicílios dos 55 animais considerados reagentes no ELISA (amarelo) e desses os 20 animais considerados reagentes também na RIF (vermelho), com identificação individualizada dos animais considerados reagentes e identificação da localização.....	48
---	----

## 1. INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral (LV) antes presente apenas em zonas rurais e ambientes silvestres, é atualmente uma enfermidade emergente com incidência crescente em meio ao processo de urbanização. Os fatores determinantes relacionados à presença desta enfermidade em grandes metrópoles estão relacionados com o convívio muito próximo do ser humano e reservatório (cão), o aumento da densidade do vetor, o desmatamento acentuado em constante processo migratório e o estado imunológico da população alterado pelo estresse, desnutrição, drogas e enfermidades transmissíveis imunossupressoras. Associado à redução de investimentos na saúde e educação, além da descontinuidade das ações de controle.

Outro possível fator é a superpopulação canina, principal reservatório urbano da doença, especialmente aqueles animais considerados semidomiciliados, com trânsito livre e exposto ao vetor nos diferentes ambientes que possam perambular. Neste sentido, é importante ressaltar que muitos estudos indicam que a leishmaniose visceral canina (LVC) precede o aparecimento da enfermidade humana, sendo o cão considerado um sentinela.

O Ministério da Saúde preconiza para o controle da LV a interrupção da cadeia de transmissão da doença em uma comunidade. Como estratégias de controle preconiza-se o diagnóstico e tratamento precoce dos casos humanos, a redução populacional do flebotômico, a eliminação dos reservatórios e as atividades de conscientização à população.

O Município de Rio Verde/GO à 45 anos se destaca nacionalmente na atividade do agronegócio, crescendo desordenadamente no âmbito populacional e estrutural. Este fato trouxe a ocupação de matas ciliares em meio ao processo de urbanização sem planejamento e saneamento básico, permitindo dessa forma a existência de condições favoráveis à presença da LV neste município. Até o momento, o município registrou 15 casos humanos de leishmaniose tegumentar e três casos de leishmaniose visceral não autóctones.

A LV e a LVC preocupam as autoridades sanitárias do município devido ao aumento de sua ocorrência nos últimos anos nas proximidades, aliado ao fato da situação epidemiológica das enfermidades serem desconhecidas na

região de estudo. Neste contexto, a realização deste projeto contribuiu consideravelmente para a análise epidemiológica da saúde animal, da saúde pública e da saúde ambiental, além da conscientização da população envolvida no Município de Rio Verde/GO.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

A leishmaniose visceral encontra-se entre as sete endemias consideradas prioritárias no mundo. A doença tornou-se um importante problema de saúde pública, estando amplamente distribuída nos quatro continentes, principalmente em regiões tropicais e subtropicais da Ásia e Oriente Médio, sul da Europa, norte da África, América do Sul e Central. Nas Américas, a LV ocorre desde o México até a Argentina, sendo que cerca de 97% dos casos humanos descritos são procedentes do Brasil (VOLPINI et al., 2004).

A LV é uma enfermidade amplamente distribuída no mundo, ocorrendo em todos os continentes, com exceção da Oceania. A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que 90% dos casos de leishmaniose visceral ocorrem no Brasil, Índia, Nepal, Sudão e Bangladesh (OMS, 2010). No Brasil, está presente em todas as regiões e apresenta uma média de 3.458 casos confirmados por ano. Entre os anos de 2001 a 2010, o país notificou 33.315 casos com uma taxa de letalidade de 6,9% ao ano (BRASIL, 2011a).

No Brasil tem sido apontada como doença reemergente pelo processo de transição epidemiológica, pela incidência crescente nas áreas onde ocorria tradicionalmente, além da expansão geográfica para os estados mais ao sul do país (WERNECK, 2010). A enfermidade estava restrita às áreas rurais do nordeste do país, mas apresentou mudanças no padrão de transmissão, expandiu para outras regiões do país com incidência nos grandes centros (BRASIL, 2013). A partir de 1980, possivelmente, devido às mudanças decorrentes das transformações ambientais, induzidas por fluxos migratórios intensos, esvaziamento rural, urbanização crescente com ocupação desordenada e iniquidades na distribuição de renda, houve a expansão das áreas endêmicas, promovendo o aumento dos casos nos centros urbanos de

médio e grande porte (COSTA, 2008). Casos autóctones foram registrados em 21 dos 27 estados, nas cinco regiões brasileiras (BRASIL, 2013).

O agente etiológico da Leishmaniose Visceral (LV) pertence ao gênero *Leishmania*, da família Trypanosomatidae e ordem Trypanosomatida (ASHFORD, 2000). Compreendem três espécies do complexo *Leishmania (Leishmania) donovani*: a *L. (L.) donovani* (LAVERAN; MESNIL, 1903), que tem um perfil antroponótico e ocorre na Índia, Paquistão, China Oriental, Bangladesh, Nepal, Sudão e Quênia (TAVARES; FERNANDES; MELO, 2003); a *L. (L.) infantum* (NICOLLE, 1908), agente etiológico da LV, zoonose da região sudoeste e central da Ásia, nordeste da China, norte da África e Europa Mediterrânea; e no Novo Mundo, onde o Brasil está inserido, a espécie é *L. (L.) chagasi* (CUNHA; CHAGAS, 1937; GARCIA E MARCONDES, 2007) que também apresenta um caráter zoonótico (MAURÍCIO, STOHARD; MILES, 2000).

Mauricio et al. (1999), por meio de estudos bioquímicos e moleculares, consideraram a *L. chagasi* e *L. infantum* como espécies filogeneticamente semelhantes. Contudo, o kDNA (DNA do cinetoplasto), além da existência de outras diferenças genéticas, apoiaram Shaw (2006) a diferenciá-las. Foi sugerido então, que o mais correto seria manter a nomenclatura em subespécie, sendo *L. (Leishmania) infantum infantum* para o agente que ocorre no Velho Mundo e *L. (Leishmania) infantum chagasi* para o agente que ocorre no Novo Mundo (MAURICIO et al., 1999; LAINSON; RANGEL, 2005).

Os parasitos, que são intracelulares obrigatórios, apresentam-se sob duas formas: a amastigota, presente nos vertebrados, é aflagelar, contém núcleo e cinetoplasto, sendo encontrada no interior de células do sistema mononuclear fagocitário e pele; e a forma promastigota que também possui núcleo e cinetoplasto, mas diferencia-se por possuir flagelo livre e ser encontrada no tubo digestório do inseto vetor (RIBEIRO, 2007; SONODA, 2007; SILVA, 2007).

Essa enfermidade é subdividida em leishmaniose tegumentar (LT), apresentando manifestações cutâneas, mucocutânea ou cutânea tegumentar e em LV com manifestações viscerais e às vezes cutâneas, comum no ser humano e nos cães (BANETH, 2006; SONODA, 2007).

Geralmente a infecção é originada pela picada de flebotomíneos do gênero *Lutzomyia* (BELO et al., 2013), os quais são conhecidos popularmente como mosquito “palha”, “cangalhinha”, “birigui” ou “tatuquiras”, sendo a principal espécie responsável no Brasil a *L. longipalpis* (ALVES; FAUSTINO, 2005; FEITOSA, 2006). Pita-Pereira et al. (2008), recentemente, confirmaram o potencial da *Lutzomyia cruzi* e *Lutzomyia forattinii* na transmissão do parasita no Estado do Mato Grosso do Sul.

Embora não tenham sido encontradas evidências suficientes as pulgas (*Ctenocephalides felis*) e os carrapatos (*Rhipicephalus sanguineus*) tem sido objetos de estudo como vetores em potencial da *Leishmania* spp. (FERREIRA et al., 2009; DANTAS-TORRES et al., 2010), além de outras formas de transmissão a transplacentária e a venérea (SILVA et al., 2009; BOGGIATTO et al., 2011).

A principal forma de transmissão do parasita para o ser humano e outros hospedeiros vertebrados é através da picada de fêmeas de flebotomíneos infectados (SANTA ROSA; OLIVEIRA, 1997). No momento do repasto sanguíneo, as fêmeas infectadas inoculam as formas promastigotas metacíclicas no hospedeiro vertebrado, as quais são fagocitadas por macrófagos da derme. No interior das células fagocitárias, nos vacúolos parasitóforos, as formas promastigotas diferenciam-se em amastigotas e iniciam intensa reprodução por divisão binária, causando o rompimento das células quando estas já estão repletas de parasitas. As amastigotas livres são fagocitadas por novos macrófagos em um processo contínuo, ocorrendo então à disseminação hematogênica e linfática para outros tecidos ricos em células do sistema mononuclear fagocitário, como linfonodos, fígado, baço e medula óssea (BRASIL, 2006; MONTALVO et al., 2012).

A leishmaniose visceral é caracterizada por dois ciclos epidemiológicos, o ciclo silvestre e o urbano. O ciclo silvestre apresenta como principais reservatórios as raposas (*Dusicyon vetulus* e *Cerdocyon thous*) e marsupiais (*Didelphis albiventris* e *D. marsupialis*), já no ciclo urbano o cão (*Canis familiares*) é considerado o principal reservatório e de grande importância na manutenção do ciclo da doença (LAINSON, 1983; SCHIMMING; PINTO E SILVA, 2012).

No ciclo urbano é dada essa importância para o cão pelo fato dos casos humanos serem normalmente precedidos por casos em cães, funcionando como “sentinelas”. Esses animais apresentam uma parasitemia na pele superior à encontrada no ser humano, o que favorece a infecção dos vetores (SCHIMMING; PINTO e SILVA, 2012). Outro agravante é a alta taxa reprodutiva destes animais, em conjunto a crescente falta de responsabilidade por parte dos tutores, levando ao abandono. Além da maior adaptação e dispersão do vetor no ambiente urbano, proporcionando condições ideais para uma epidemia da enfermidade (OPAS, 2012).

A LVC pode apresentar-se desde uma forma assintomática até uma doença sistêmica, muitas vezes levando o cão à morte. De acordo com Dantas-Torres (2006) e Brandão-Filho (2006) em torno de 50% dos cães podem não apresentar clínica aparente, quando sintomáticos, comumente apresentam mais de um sinal (FREITAS et al., 2012).

Aguiar et al. (2007), em seu estudo classificou os animais de acordo com a sua condição clínica, os quais variaram de oligossintomático (animais com no máximo três sinais clínicos) a polissintomáticos (animais que apresentassem a partir de três sinais clínicos característicos da LVC). Da mesma forma Queiroz et al. (2010) e Calado (2014) adotam a mesma classificação, porém incluíram a classificação assintomático (sendo animais com ausência de qualquer alteração clínica).

As alterações clínicas mais frequentes observadas em cães com LVC são linfadenopatia, alterações dermatológicas, perda de peso, intolerância ao exercício, hepato e esplenomegalia, emaciação e onicogribose. Anemia, lesões oculares, hipertermia, êmese, diarreia, alterações respiratórias, epistaxe, comprometimento renal e hepático, poliúria, polidipsia, poliartrite, atrofia muscular e poliomiosite (FEITOSA et al., 2000; SILVA, 2007; SOLANO-GALLEGO et al., 2009; SCHIMMING; PINTO E SILVA, 2012). Segundo Salzo (2008) alterações dermatológicas são as mais comumente encontradas, como exemplos a dermatite esfoliativa, hiperqueratose naso-digital, alterações em pelame, nodulações, ulcerações e piodermatite bacteriana (COSTA, 2011; CORTES et al., 2012). Embora menos comuns podem apresentar sinais atípicos, como alterações neurológicas: letargia, convulsões, mioclonias,

nistagmo, tremores, paralisia de mandíbula, ptose labial, andar em círculos, tetraparesia, rigidez raquial e cervical (SILVA, 2007).

Freitas et al. (2012) avaliaram os parâmetros clínicos de cães naturalmente infectados por *Leishmania chagasi* oriundos do Centro de Controle de Zoonoses de Fortaleza, selecionados pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e observaram que os sinais clínicos mais frequentes foram caquexia (77,9%), ceratoconjuntivite (61,8%) e linfadenopatia (55,9%), sendo que a maioria dos animais (86,8%) apresentaram mais de um sinal clínico característico de LVC. Barbosa et al. (2010) realizaram exames clínico de animais considerados positivos para *Leishmania* spp. na sorologia e observaram a presença de sinais clínicos compatíveis com a doença em cães de cinco localidades no Distrito do Tirirical no Município de São Luís/MA. Os autores observaram linfadenopatia localizada, alopecia, pelo sem brilho, emagrecimento, úlceras cutâneas, descamação furfurácea, ceratoconjuntivite e onicogribose.

Campos et al. (2013) relataram um caso autóctone de LVC no Município de Volta Redonda/RJ, área não endêmica para essa doença, e alertaram os clínicos veterinários e a comunidade científica para a expansão dessa importante zoonose. Além disso, orientaram os médicos veterinários, como proceder frente a um caso suspeito de LVC. A LVC pode ser clínica e laboratorialmente confundida com uma ampla gama de patologias caninas e o conhecimento de suas manifestações clínicas e de procedimentos laboratoriais específicos e sensíveis para esse diagnóstico, são de grande importância para uma rápida confirmação e notificação do caso, contribuindo assim diretamente para o controle do foco.

Cardoso et al. (2007) e Medeiros (2013) consideram que milhares de cães infectados são portadores são e constituem uma fonte de infecção altamente competente para infectar o vetor sendo, importantes na manutenção da doença em áreas urbanas (LAURENTI et al., 2013). Abranches et al. (1991) estimaram que 50% dos cães, não apresentam sinais clínicos. Portanto, a detecção de animais assintomáticos é de fundamental importância em regiões endêmicas, uma vez que estes não são identificados no exame clínico, passando despercebido e algumas vezes, são indetectáveis pelos métodos sorológicos convencionais devido aos baixos títulos de anticorpos (DOMINGOS



et al., 2012). Importante ressaltar que, em áreas endêmicas os sinais clínicos da LVC são extremamente variáveis em consequência dos numerosos mecanismos patogênicos, dos diferentes órgãos afetados e da diversidade da resposta imune iniciada pelo hospedeiro (FEITOSA et al., 2000; SOLANO-GALLEGO et al., 2009).

Para o diagnóstico, segundo Badaró e Duarte (1996), deve-se seguir algumas etapas sucessivas baseando nos seguintes pontos: a) epidemiológicos – procedência, faixa etária, presença do vetor e cães doentes na vizinhança; b) diagnóstico clínico – pesquisa de sinais e sintomas peculiares da enfermidade como, hepatomegalia e/ou esplenomegalia, linfadenomegalia, onicogribose; e c) diagnóstico laboratorial – achados sugestivos no hemograma, eletroforese de proteínas, presença do parasito em aspirado de medula óssea ou realização de provas sorológicas específicas.

O diagnóstico laboratorial da LVC é semelhante ao praticados na LV humana, distinguindo-se em exames parasitológicos ou sorológicos. O método parasitológico é o de certeza, o qual esta embasado na demonstração do parasito, ou seja, visualização direta de formas amastigotas. Para tal demonstração estes métodos, tidos como invasivos, podem trazer riscos para o animal, de forma a tornarem-se inviáveis em programas de saúde pública, pois uma quantidade elevada de animais precisam ser submetidos aos procedimentos em um curto período. Outros tipos de diagnósticos laboratoriais são realizados por provas sorológicas como a RIFI, ELISA, fixação do complemento e aglutinação direta (BRASIL, 2014).

De acordo com Albuquerque et al. (2007), existem considerações importantes que devem ser feitas na eleição de um teste sorológico para LVC, como o quadro clínico dos cães infectados, os antígenos e a subclasse da imunoglobulina a ser utilizada na realização do teste. A confecção da maioria dos testes diagnósticos disponíveis utiliza parasitos totais ou lisados, interferindo diretamente na especificidade do teste, podendo omitir animais verdadeiramente infectados (ROSARIO et al., 2005).

Dentre as técnicas sorológicas empregadas para a detecção de anticorpos anti-*Leishmania*, estão o ensaio imunoenzimático (ELISA) e a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) (BRASIL, 2006, GARCIA; MARCONDES, 2007; SILVA et al., 2011).

Romero e Boelaert (2010) ao realizarem uma revisão sistemática de pesquisas realizadas até 2008 encontraram que a sensibilidade da RIFI variou de 72% a 100% e a do ELISA de 30% a 98% em animais assintomáticos, ambos em relação ao diagnóstico parasitológico.

A RIFI está baseada numa reação de anticorpos do soro dos animais com os parasitos (antígenos), sob forma promastigota (*Leishmania sp.*), fixados em lâminas de microscopia. Em uma etapa subsequente, se utiliza um conjugado de anti-imunoglobulina de cão, fração IgG, marcada com produto fluorescente (isotiocianato de fluoresceína) para evidenciação da reação (BIOMANGUINHOS, 2008a). A RIFI tem sido amplamente utilizada para o diagnóstico de várias doenças parasitárias, embora possa apresentar reações cruzadas, principalmente com a leishmaniose tegumentar americana (LTA) e doença de Chagas (BRASIL, 2014).

O ELISA, por sua vez, consiste na reação de soros com antígenos solúveis e purificados de *Leishmania spp.* cultivadas in vitro, inativadas e adsorvidos nas cavidades das microplacas. Depois adiciona-se uma anti-imunoglobulina de cão marcada com a enzima peroxidase, que se ligará aos anticorpos, se presentes. Para a evidenciação da reação utiliza-se tetrametilbenzina (TMB), formando um composto de coloração azul (BIOMANGUINHOS, 2008b).

Mettler et al. (2005) afirmam que o ELISA tem sido capaz de detectar animais sororreagentes, tanto com e sem sintomatologia clínica, enquanto a RIFI detecta melhor naquela parcela de animais com manifestações clínicas. Ao utilizarem o ELISA em cães assintomáticos sabidamente infectados, Assis et al. (2010) obtiveram 12,5% de animais reagentes.

Laurenti (2010) afirma que os kits do ELISA e RIFI utilizados pelo Ministério da Saúde, fornecidos por Bio-Manguinhos utilizam como antígeno formas promastigotas de *Leishmania major-like* (espécie causadora da leishmaniose cutânea), gerando resultados falso-positivos e negativos. Um estudo realizado por Baleeiro et al. (2006), foi demonstrado que a variação no antígeno utilizado para confeccionar o teste pode influenciar significativamente o resultado, e que a utilização de antígenos a partir de outras espécies de *Leishmania* que não a *L. chagasi* resultou na diminuição de reatividade com soro de cães. Barbosa-de-Deus et al. (2002), em estudo chegaram a conclusão

que o antígeno da *L. major-like* apresenta 100% de especificidade e 92% de sensibilidade para diagnosticar a LV humana e canina, sendo isenta de reações cruzadas. Machado et al. (2007), ao compararem a concordância dos resultados dos testes de ELISA e RIFI que utilizaram como antígeno a *Leishmania major* e a *Leishmania amazonensis*, obtiveram concordância de ótima a perfeita entre os testes, mostrando que a qualidade diagnóstica foi preservada, corroborando o estabelecido pelo Programa de Controle da Leishmaniose Visceral (PCLV) do Ministério da Saúde (MS).

As características técnicas dos testes são fundamentais na escolha do exame diagnóstico que será utilizado num programa de controle da LVC, levando-se em consideração principalmente quando a eliminação do cão positivo será uma das medidas adotadas (CABRERA et al., 2003; ALVES; BEVILACQUA, 2004).

Essas técnicas sorológicas eram recomendadas pelo Ministério da Saúde (MS) para avaliação da soroprevalência em inquéritos caninos amostrais e censitários até o ano de 2011 (BRASIL, 2006, GARCIA; MARCONDES, 2007; SILVA et al., 2011). O protocolo de diagnóstico da LVC era constituído do ELISA e da RIFI, sendo respectivamente, triagem e confirmatório. O resultado considerado sororreagente no ELISA é aquele que apresente o valor da densidade ótica (DO) igual ou superior a 3 desvio-padrões do ponto de corte (Cut-Off) do resultado do controle negativo, situação que vem especificado no teste (BRASIL, 2014). Os animais que tivessem títulos maiores ou iguais 40 na RIFI eram indicados para a eutanásia, com o intuito de interromper o ciclo de transmissão (BRASIL, 2006; SILVA et al., 2011). Segundo Ribeiro et al. (2013) cães que possuem ponto de corte acima da diluição 1:160 podem ser considerados verdadeiros positivos. Contudo, diante de algumas dificuldades operacionais da RIFI (como custo, equipamentos específicos e repetibilidade) e a necessidade de facilitar e avançar tecnologicamente no diagnóstico dessa enfermidade é que o MS no final de 2011 modificou o protocolo, passando a utilizar o teste rápido Dual Path Platform (TR-DPP<sup>®</sup>) e o ELISA, como triagem e confirmatório, respectivamente (BRASIL, 2011).

Segundo a nota técnica conjunta 01/2011 (BRASIL, 2011) a realização do teste imunocromatográfico poderá ser feita através de amostras como

sangue total, soro ou plasma. Enquanto que, para a realização do ELISA está indicado apenas o soro sanguíneo, obtido de coleta de punção venosa. A implantação do teste rápido imunocromatográfico teve como objetivo solucionar ou minimizar alguns problemas enfrentados, tais como: reduzir o número de animais falsos positivos e falsos negativos, agilizar a retirada dos animais infectados, diminuir a sobrecarga dos laboratórios de saúde pública e também minimizar ou eliminar a intermitência no fornecimento de Kits de Elisa por parte do laboratório produtor (BRASIL, 2011).

Várias proteínas recombinantes foram desenvolvidas para realizar um diagnóstico mais preciso da LV, uma delas a proteína recombinante K39 (rk39) a mais promissora delas. Esse antígeno provou, por diversos testes, ser altamente sensível e específico para o diagnóstico da LV (SINGH; SIVAKUMAR, 2003). O desenvolvimento de um teste rápido utilizando antígenos rk39 foi tido como revolucionário para o diagnóstico da LV, com sensibilidade variando de 75 a 85% e especificidade 70-92% na detecção da doença no subcontinente Indiano (Índia e Nepal). Mais recentemente, Pattabhi et al. (2010) compararam a precisão desta proteína com uma outra advinda de fusão, a poliproteína recombinante k28 (fusão da rk9, rk26 e rk39), dos quais os resultados indicaram o seu grande potencial como uma importante opção para ser empregada em diagnósticos para LV.

Dourado et al. (2007), relata que novos métodos diagnósticos, mais precisos e mais rápidos que independam de qualquer infraestrutura laboratorial são cada vez mais requisitados e necessários. Dessa necessidade surgiu o TR-DPP® para LVC, patenteado pela Chembio Diagnostics e desenvolvido pelo Instituto Bio-Manguinhos/Fiocruz (FUNED, 2010). É um ensaio de triagem, conforme redigido na Nota técnica 01/2011, que de um lado possui, a combinação da proteína A conjugada a partículas de ouro coloidal, e do outro, antígenos recombinantes rk28, específicos de *Leishmania*, ambos ligados a uma membrana de nitrocelulose. Quando existem anticorpos anti-*Leishmania* na amostra testada, estes reagirão com os antígenos recombinantes, e em sequência se ligarão à combinação de proteína A e ouro coloidal, fornecendo o resultado positivo por meio de reação de cor (BIO-MANGUINHOS, 2011; GRIMALDI et al., 2012).

Além do TR-DPP<sup>®</sup>, existem ainda, testes comerciais de imunocromatografia, que empregam anticorpos monoclonais anti-IgG de cão e antígenos de *Leishmania* de diferentes fontes. Esses testes são de fácil manuseio e rápido resultado e possuem especificidade entre 61% e 100% e sensibilidade variando de 35% á 100% (GARCIA; MARCONDES, 2007). De acordo com o Manual Técnico de Leishmanioses Caninas (CRMV-PR, 2015) o TR-DPP<sup>®</sup>, apresenta sensibilidade de 93 a 100% e especificidade de 92 a 100% (CRMV-PR, 2015). Já Grimaldi et al. (2012) ao testarem o mesmo teste encontraram divergências quando usados em animais sintomáticos e assintomáticos, sendo sensibilidade de até 98% e de 47%, respectivamente.

Em estudo comparativo realizado por Romero e Boelaert (2010) entre o ELISA e o TR-DPP<sup>®</sup>, este apresentou sensibilidade igual ao ELISA. Reithinger et al. (2002), em estudo de cães sintomáticos e assintomáticos, encontraram sensibilidade de 71 a 88% para o ELISA e de 72 a 77% para o teste imunocromatográfico com o antígeno recombinante rK39. Em estudo parecido, Otranto et al. (2005) obtiveram sensibilidade de 97,1% para o teste imunocromatográfico e para o ELISA 98,6%. Costa et al. (2003), ao trabalharem com testes rápidos utilizando o antígeno rK39, 96% de sensibilidade e 100% de especificidade para LVC. O mesmo autor, ao utilizar o antígeno rK26 encontrou a mesma especificidade, porém menor sensibilidade que os testes que possuíam a proteína rK39.

Domingos (2012) ao comparar os testes TR-DPP<sup>®</sup> e ELISA encontrou sensibilidade proporcionalmente semelhante entre eles, contudo, a concordância foi ruim, já que os mesmos animais, positivos ou negativos em um teste, não eram os mesmos no outro.

O estado clínico geral do animal está relacionado com o tipo de resposta desenvolvida pelo sistema imunológico do animal. Cães infectados desenvolvem principalmente resposta imune humoral e altos títulos de anticorpos, destacando-se da classe IgG (COURTENAY et al., 2002; FERRER, 2002), relacionando-se diretamente com a sintomatologia e não com a proteção do organismo.

De acordo com alguns autores cães infectados, embora clinicamente saudáveis, possuem resposta imune do tipo Th1 (linfócitos T helper do tipo 1), mediada pelas citocinas IL-2, IL-12, IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ . Nos animais sintomáticos,

citocinas como IL-4, IL-6, IL-10 e TGF- $\beta$  são responsáveis pela resposta Th2 (linfócitos T helper do tipo 2) (STRAUSS-AYALI et al., 2005; BARBIÉRI, 2006; SILVA, 2007; REIS et al., 2009; SOLANOGALLEG0 et al., 2011), sendo caracterizada pela produção de anticorpos policlonais a partir de linfócitos B, levando a uma elevada produção de anticorpos inespecíficos e específicos contra os antígenos do parasita (LOPEZ et al., 1996).

Segundo Pinelli et al. (1994), cães que desenvolvem a forma severa e progressiva da enfermidade, estão associados com uma resposta do tipo Th2, predominantemente imune-humoral, sendo incapazes de conter a infecção. Desta forma, a hipergamaglobulinemia acentuada não é, paradoxalmente, protetora e está relacionada com alguns dos sinais clínicos fundamentais da doença, além de estar associada com eventos menos frequentes como trombocitopenia imunomediada e anemia (SILVA, 2007).

Falqueto et al. (2009) relatam que a resposta imune humoral heterogênea desenvolvida pelos cães infectados, em sua maioria, envolve múltiplos antígenos que são reconhecidos diferentemente em cada indivíduo e de acordo com o progresso da enfermidade neste mesmo animal.

De acordo com Ferrer (2002), Barbiéri (2006) e Martinez-Subiela et al. (2011) a produção de anticorpos específicos e sua consequente soroconversão podem ser verificados num intervalo de três a cinco meses após o animal ter sido infectado. Cães infectados pela LVC podem ter total ausência de sintomas, permanecendo aparentemente saudáveis por longos períodos ou até mesmo a vida toda, de forma a desenvolver uma resposta imune celular eficiente, tornando-os resistentes à doença (PINELLI et al., 1994).

Sempre que possível é melhor realizar os diferentes testes em paralelo ou utilizar testes que envolvam antígenos múltiplos, com o intuito de ampliar a detecção da LVC (FALQUETO et al., 2009). Porrozzi et al. (2007) obtiveram 100% de sensibilidade com o ELISA ao utilizar os antígenos rk39, rk26, e A2 recombinante em paralelo.

O diagnóstico da LVC, além de ser feito por métodos clássicos, como técnicas sorológicas em conjunto as evidências clínicas e epidemiológicas, pode ser feito através de metodologias mais recentes, que buscam evidências diretas do parasita. A reação da polimerase em cadeia (PCR) tem se mostrado um instrumento com grande sensibilidade na pesquisa do DNA, permitindo

identificar e amplificar seletivamente sequências do material genético do parasito em materiais biológicos diversos, como medula óssea, biópsia cutânea, aspirados de linfonodos, sangue, cortes histológicos de tecidos e também do vetor (VOLPINI et al., 2004; GARCIA; MARCONDES, 2007).

O padrão ouro para diagnóstico da LVC é a busca direta do agente, exames parasitológicos, que consistem na visualização de formas amastigotas de *Leishmania* livres ou no interior de macrófagos (LAPPIN, 2004). As formas amastigotas podem estar presentes em linfonodos, medula óssea, baço ou fígado, que são os órgãos mais parasitados, e nódulos cutâneos, realizados por punção aspirativa (RASKIN, 2003; NELSON; COUTO, 2006; SONODA, 2007). Também pode ser realizado por citologia, realizando punção aspirativa por agulha fina (PAAF) e corados com Giemsa, Wright ou Panótico, em seguida. A especificidade desse método é elevada chegando próximo dos 100%, já a sensibilidade está na dependência de alguns fatores como, grau de parasitemia, tipo de material biológico coletado e do tempo de leitura da lâmina, ficando em torno de 80% para cães sintomáticos e menor ainda para cães assintomáticos (BRASIL, 2014).

O histopatológico é pouco específico e caracteriza uma reação inflamatória granulomatosa com presença de células mononucleares, comuns às várias dermatoses, sendo assim quando há poucas formas amastigotas nos tecidos pode tornar-se difícil o diagnóstico somente pela histopatologia (SONODA, 2007). Os achados histopatológicos mais comuns são infiltração celular (principalmente histiócitos e macrófagos) e formas amastigotas intracelulares características identificadas em muitos tecidos como: pele, linfonodo, fígado, baço e rim. Ulcerações em estômago, intestino e colón também podem ser encontrados, porém é mais raro (BARR, 2005).

Não se tem até o momento uma concordância entre testes parasitológicos, imunohistológicos e sorológicos, tornando-se discutível, o que se atribui à incapacidade dos testes sorológicos detectarem anticorpos nas distintas fases da doença (DOMINGOS, 2012).

Segundo alguns autores em caso de discordância entre os resultados de diferentes metodologias, o melhor é considerar o quadro clínico do animal e repetir o exame após um mês, podendo ser realizado o exame parasitológico e/ou PCR, embora não seja recomendado usar os resultados destes testes

como confirmatório caso sejam negativos (ALVAR et al., 2004; BANETH; AROCH, 2008).

Oliveira (2013) partindo de um caso canino em Jacaré, Niterói/RJ, realizou um inquérito soropidemiológico canino para avaliar a extensão da doença na localidade. Os cães foram identificados através de diversos testes sorológicos, como TR-DPP<sup>®</sup>, ELISA e RIFI. Os autores observaram prevalência de 15,5% associados à presença de ectoparasitas, animais com sinais clínicos e casos prévios de LVC na residência, demonstrando que houve disseminação da enfermidade entre os cães.

Almeida et al. (2010) realizaram investigação dos casos caninos de infecção por *Leishmania spp.* utilizando RIFI e citologia, enfocando a sua distribuição geográfica e correlacionando com a ocorrência de casos de leishmaniose visceral humana. Os autores observaram que dos cães suspeitos 38% foram sorológicos ou parasitologicamente positivos e a soroprevalência foi significativa nos bairros com renda per capita baixa. Apesar de uma distribuição difusa da doença canina no município, os casos humanos se originaram principalmente na regional norte do município. Esse fato sugere que há risco em todo o município, devendo ser realizados novos estudos soropidemiológicos, assim como a distribuição vetorial, que promovam maior conhecimento da infecção canina por *Leishmania sp.*, de forma a gerar medidas adequadas para o controle da doença.

Borges et al. (2014) determinaram a prevalência e a distribuição espacial da LVC do Município de Juatuba/MG e observaram uma prevalência estimada em 10,6%, com variação de 3 a 50%, distribuída em 70,6% dos bairros do município. Os autores enfatizaram que as ações de prevenção e controle à LVC devem ser feitas de acordo com a especificidade de cada localidade, para evitar a expansão da doença entre os cães e novos casos humanos no município.

Almeida et al. (2012) avaliaram dados sobre a soroprevalência em áreas endêmicas do Município de Cuiabá/MT e determinaram os fatores de risco associados à infecção canina e observaram que 22,1% apresentaram-se soros reagentes para leishmaniose, e os animais que viviam em ambiente rural apresentaram risco 1,9 vezes maior de adquirir a infecção do que aqueles em ambiente urbano. Esses resultados contribuíram para o conhecimento sobre os



aspectos da LVC em Cuiabá e apontaram para a necessidade de inclusão de ações educativas e sanitárias no Município, já que a região possui características favoráveis para a dispersão da doença como já observado em outras cidades.

Figueiredo et al. (2012) descreveram as alterações clínicas de cães infectados por *L. braziliensis* e observaram que 70,6% dos cães apresentaram pelo menos uma alteração física; 64,7% apresentaram lesões cutâneas, 23,5% perda de peso e 11,8% onicogrifose. Os cães infectados por *L. braziliensis* apresentaram alterações clínicas inespecíficas que são comumente observadas em cães infectados por outros patógenos. Os autores enfatizaram que veterinários e profissionais de saúde pública não deveriam considerar a presença de tais sinais clínicos como critério de diagnóstico para leishmaniose visceral em cães, em áreas endêmicas, no intuito de evitar um diagnóstico equivocado e a subsequente eliminação de cães infectados por *L. braziliensis*.

A LV é de notificação obrigatória às autoridades locais de saúde, sendo disciplinada a investigação epidemiológica para definir as medidas de controle (BRASIL, 2010). As ações de vigilância e controle dessa enfermidade foram descritas pelo Ministério da Saúde (MS) e devem seguidas pelos profissionais de saúde para a redução da morbimortalidade. As medidas de controle estão baseadas no diagnóstico precoce e tratamento adequado dos casos humanos, no controle do vetor e do reservatório canino e nas atividades de educação em saúde (BRASIL, 2006).

As atividades de educação em saúde devem ser organizadas com envolvimento multiprofissional e multi-institucional em todos os serviços de vigilância e controle da enfermidade. As atividades devem englobar informações sobre a ocorrência da enfermidade, associadas à adoção de medidas preventivas considerando o conhecimento, atitudes e práticas da população associadas com as equipes de profissionais capacitadas em processo de educação continuada, estabelecendo uma relação dinâmica entre os conhecimentos profissionais e populacionais para a compreensão global do processo saúde/doença (BRASIL, 2006). E essas atividades educativas devem ser realizadas em áreas endêmicas e não endêmicas (OMS, 2010).

Deve ser realizado o diagnóstico de situação, considerando as características populacionais tais como perfil socioeconômico, organizacional e

de comunicação, de forma participativa (BRASIL, 2007a). É importante saber o grau de conhecimento dos envolvidos, pois mesmo em áreas endêmicas para leishmaniose, a informação fica restrita as pessoas acometidas e seus contatos, dificultando as ações de controle da doença (UCHÔA; SERRA et al., 2004).

Barbosa et al. (2010) determinaram a soroprevalência e as variáveis epidemiológicas associadas com a infecção de *Leishmania* spp. em cães de cinco localidades no Distrito do Tirirical no Município de São Luís/MA. Os autores utilizaram como variáveis a proximidade da moradia com a mata, a existência de criação/abrigo de animais de produção e de animais silvestres, o sexo, a idade e a raça. Animais das localidades próximas de matas têm mais chances de serem soropositivos para *Leishmania* spp. do que aqueles das outras localidades estudadas, de forma que não verificaram correlação entre as outras variáveis estudadas e a soropositividade para *Leishmania* spp..

Borges et al. (2009) analisaram o risco de se contrair LV e a presença de animais em residências de Belo Horizonte/MG e observaram que a presença de patos, roedores, pássaros e galinhas aumenta o risco de ocorrer LV em 4.18, 1.81, 1.57 e 1.47 vezes, respectivamente. Para os proprietários de cães, o aumento no risco de contrair LV é equivalente a 2.17 vezes e está relacionado ao número de cães no domicílio. O risco de contrair LV é 1.87 vezes maior para moradores com um cão e 3.36 vezes para moradores com dois cães, quando comparados a pessoas que não possuem esses animais. Da mesma forma, André et al. (2013) realizaram um levantamento epidemiológico dos casos de LV humana no Município de Mossoró/RN, no período de 2006 a 2012, e a eutanásias em cães relacionando o número de casos de LV humana e o aumento da enfermidade na espécie canina. Os autores observaram relação entre o crescente número de casos humanos e os casos caninos, decorrente de uma maior contaminação ambiental.

Silva et al. (2012) avaliaram a associação entre condições socioambientais peridomiciliares e a presença de cães sorologicamente positivos para *L. chagasi* em Teresina/PI. Os autores observaram que residências com história de pelo menos um cão recolhido pelo programa de controle da leishmaniose visceral nos últimos 12 meses apresentaram chance cerca de 5 vezes mais alta de terem cães infectados em comparação com

residências sem história de cães removidos no período. E concluíram que a identificação de fatores associados a LVC pode ser útil para a delimitação de áreas sob maior risco para leishmaniose visceral humana, na medida em que a infecção canina geralmente precede a ocorrência de casos humanos.

Azevedo et al. (2008) realizaram avaliação epidemiológica da leishmaniose visceral em cães domiciliados no Município de Poxoréo/MT e observaram prevalência de 7,8% da enfermidade. Eles associaram a prevalência de LVC com as seguintes variáveis, faixa etária, presença de sinais clínicos e presença de outra espécie animal co-habitando com os cães avaliados, sendo as galinhas mais frequentemente observadas entre os animais soropositivos. Os autores sugerem que cães com idade superior a sete anos e a presença de outra espécie animal co-habitando com os cães podem ser fatores de risco para a LVC.

Oliveira (2013) realizou uma investigação epidemiológica a partir de um caso canino da enfermidade em Niterói/RJ e descreveu as características dos proprietários desses animais da localidade que poderiam contribuir para a disseminação da enfermidade. As características dos proprietários que poderiam contribuir foram: maior renda e grau de instrução, presença de laje e cisterna na moradia, proximidade a currais, conhecimento sobre a leishmaniose e sua prevenção e maior número de cães e com origem na própria residência. O autor enfatiza a necessidade de ações de educação em saúde na localidade para evitar a dispersão da enfermidade, pois as noções sobre leishmaniose ainda são restritas entre os entrevistados.

Maia et al. (2013) verificaram o conhecimento de pessoas acometidas por LV em relação aos fatores de riscos associados a enfermidade no Município de Petrolina/PE e observaram que 4,7% relataram casos na família e 13% a eutanásia de cães. Apenas 33,3% relataram ter cães em casa e 14,2% possuíam criação de porcos e galinhas. O recolhimento de resíduos sólidos foi relatado por 90,48% e apenas 4% dos domicílios tinham rede de esgoto. Apenas 38,09% entendiam o papel da acumulação de matéria orgânica no ciclo da doença e 95,23% apresentaram algum conhecimento sobre o papel dos cães e vetores. Os autores ressaltaram a necessidade de implementar ações educativas para prevenção e controle da LV, para melhorar a compressão da

população sobre os fatores de risco da doença, além da promoção do saneamento para as áreas endêmicas.

Diante do exposto, é fundamental a realização de um diagnóstico epidemiológico da LVC na região norte do Município de Rio Verde/GO visto que o mesmo já registrou casos humanos de leishmaniose tegumentar e visceral, apresentando condições favoráveis à presença da LVC.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo geral**

Realizar o diagnóstico de situação epidemiológica da leishmaniose visceral canina na região norte do Município de Rio Verde/GO, além de fornecer subsídios para as autoridades de saúde animal e saúde pública para melhoria dos programas de controle dessa enfermidade.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- ✓ Avaliar as condições de saúde animal, de saúde pública e de saúde ambiental relacionadas à LVC;
- ✓ Avaliar clinicamente os cães da região de estudo e classificá-los como assintomáticos, oligossintomáticos e sintomáticos;
- ✓ Realizar diagnóstico sorológico da LVC dos cães da região de estudo;
- ✓ Geoprocessar a localidade dos animais reagentes no diagnóstico sorológico;

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

A pesquisa foi executada com o apoio de estudantes e professores do curso de graduação em Medicina Veterinária da Universidade de Rio Verde/GO (UniRV), estudantes de pós-graduação do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da FCAV/UNESP/Jaboticabal/SP, do Centro de Controle de Zoonoses e da Secretaria da Educação do Município de Rio Verde/GO.

O desenvolvimento da pesquisa foi dividida em quatro etapas, sendo a primeira realizada por meio da divulgação e conscientização de estudantes da rede pública sobre o projeto de extensão universitária intitulado "Clínica Itinerante nos bairros", além da abordagem sobre guarda responsável, controle populacional e LVC. A segunda etapa foi o desenvolvimento da "Clínica Itinerante" com a participação de estudantes de graduação, pós-graduação e professores para avaliação das condições das três esferas da saúde (animal, humana e ambiental) relacionadas à LVC, avaliação clínica dos cães e coleta de sangue dos cães. A terceira etapa, diagnóstico sorológico (ELISA e RIFI), foi desenvolvida no Laboratório de Imunoparasitologia do Departamento de Patologia da FCAV/Unesp/Jaboticabal/SP. Já a última etapa foi realizada por meio de visitas nos domicílios dos animais considerados reagentes no ELISA e RIFI para nova coleta de sangue e posterior processamento e realização do DPP no Centro de Controle de Zoonoses do Município de Rio Verde/GO.

### **4.1. Local de estudo**

O presente trabalho foi desenvolvido no Município de Rio Verde/GO, localizado nas coordenadas 17° 47' 53" de latitude (S) e 51° 55' 53" de longitude (W), na região sudoeste do estado, estando distante da capital Goiânia aproximadamente 220 km, como ilustrado na Figura 1.



Figura 1 – Localização do Município de Rio Verde/GO na microrregião do sudoeste do estado, onde foi desenvolvido o projeto de pesquisa. Rio Verde/GO, 2015.

A topografia do município é plana levemente ondulada com 5% de declividade, com altitude média de 748 metros, e o clima é mesotérmico úmido, apresentando duas estações bem definidas: uma seca (de maio a setembro) e outra chuvosa (outubro a abril). A temperatura média anual varia entre 20°C e 25°C. A vegetação é constituída de cerrado e matas residuais. Seu solo é do tipo latossolo vermelho escuro com texturas argilosa e areno-argilosa.

Segundo estimativa divulgada em agosto de 2014, sua população é de 201.221 habitantes, sendo o quarto mais populoso de Goiás. A atividade econômica predominante é o agronegócio, contando com uma estrutura agroindustrial e uma importante cooperativa.

O município é dividido em sete regiões, região oeste, noroeste, sudoeste, sul, central, leste e região norte, local de desenvolvimento do presente estudo. A zona norte abrange os seguintes bairros: Arco Íris, Dimpe, Céu Azul, Liberdade, Primavera, Maurício Arantes, Nelson Veloso I e II, Serra Dourada, Dom Miguel, Parque dos Girassóis, Pauzanes, Monte Sião e Valdeci Pires, como ilustrado na Figura 2.

Na área da saúde, o município possui 13 Unidades Básicas de Saúde e nove Estratégias de Saúde da Família (ESF). A região estudada disponibiliza uma unidade de atenção básica no Posto de Saúde do Bairro Valdeci Pires, implantado no ano 2000, que atende a todos os bairros do setor norte do município. E com relação à leishmaniose visceral, de acordo com o Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAM) nos últimos cinco anos (2010 a 2015) o município registrou 74 casos humanos de leishmaniose tegumentar e

seis casos de leishmaniose visceral, sendo que três ocorreram no ano de 2015, não sendo considerados autóctones e não residentes da região de estudo.

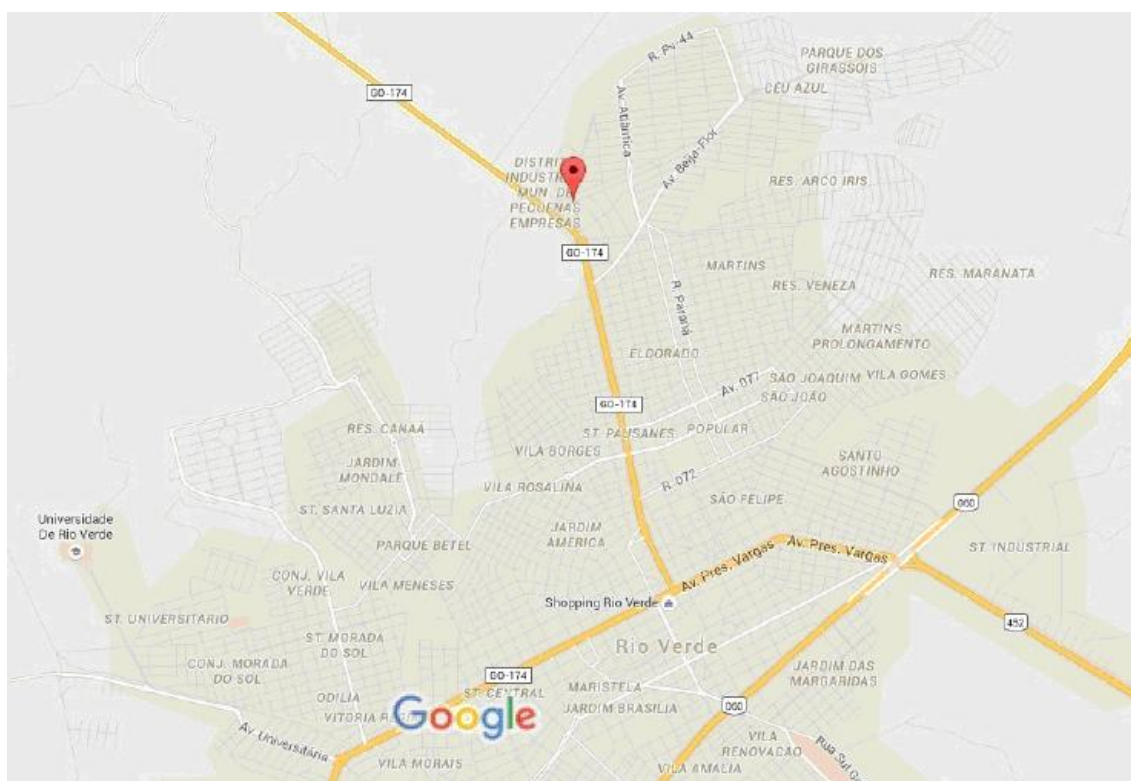


Figura 2 - Zona norte do Município de Rio Verde/GO abrangendo os bairros Arco Íris, Dimpe, Céu Azul, Liberdade, Primavera, Maurício Arantes, Nelson Veloso I e II, Serra Dourada, Dom Miguel, Parque dos Girassóis, Pauzanes, Monte Sião e Valdeci Pires, participantes da “Clínica itinerante nos bairros”.

#### 4.1.1. Caracterização da região norte do Município de Rio Verde/GO

Foram trabalhados 12 bairros localizados na região norte do Município de Rio Verde/GO. Os mesmos foram apontados pelo Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) com base em maior número de chamados para captura de cães errantes.

Nessa região 1660 famílias são beneficiadas pelo Programa Bolsa Família, distribuídas da seguinte forma: 172 no bairro Liberdade, 86 no Arco Íris, 200 no Monte Sião, 69 no Primavera, 385 no Dom Miguel, 152 no Céu Azul, 85 no Maurício Arantes, 61 no Valdeci Pires, 89 no Nilson Veloso I e II, uma no Serra Dourada, 42 no Girassóis e 318 no Pauzanes.

O processo de ocupação da área iniciou na década de 90 e começou de forma desordenada e a infra-estrutura ainda hoje é deficitária, com condições

precárias de saneamento básico, como ausência de rede de esgoto (fossas), falhas na disponibilização do abastecimento de água e transporte coletivo.

#### **4.2. Avaliação das condições de saúde animal, de saúde pública e de saúde ambiental relacionadas à LVC**

Para a realização do diagnóstico de situação da saúde animal, saúde pública e saúde ambiental foi desenvolvido e aplicado um questionário semi-estruturado durante a "Clínica itinerante nos bairros".

A "Clínica itinerante nos bairros" ofereceu atendimento médico-veterinário gratuito à população, possibilitou a coleta de dados sobre diagnóstico de situação sobre a saúde animal, saúde pública e saúde ambiental, além da colheita de material para diagnóstico sorológico da LVC. O evento aconteceu no mês de abril de 2015, com a duração de cinco dias, tendo como público alvo a população residente nos 12 bairros da região norte do Município. E contou com a colaboração de 24 estudantes e dez professores do curso de graduação em Medicina Veterinária da Universidade de Rio Verde/GO (UniRV), três pós-graduandos e um docente do Programa de pós-graduação em Medicina Veterinária da FCAV/Unesp/Jaboticabal/SP. No evento foram atendidos 383 proprietários, envolvendo um universo de 625 animais, sendo 231 fêmeas e 394 machos.

A Clínica itinerante foi dividida em quatro etapas, sendo a primeira de identificação e conscientização, a segunda de questionamento sobre saúde animal, saúde pública e saúde ambiental, a terceira de atendimento clínico e a última de colheita de material para diagnóstico da LVC. Para tanto, os estudantes foram divididos em sete grupos para melhor organização do trabalho, divulgação e patrocínio, apoio e estrutura, identificação e conscientização, diagnóstico de situação sobre saúde animal, pública e ambiental, atendimento clínico, contenção e colheita de sangue e processamento laboratorial.

O grupo divulgação e patrocínio ficou responsável pela captação de recursos financeiros, público e privado, para o desenvolvimento das atividades, além de participarem das atividades de conscientização nas escolas. Para a conscientização da população infanto-juvenil foi realizada uma parceria com a



Secretaria de Educação Municipal e respectivos diretores das escolas para o desenvolvimento do trabalho de educação em saúde. A escola municipal de ensino infantil (EMEI) e as quatro escolas municipais de ensino fundamental (EMEF) da região foram identificadas e mapeadas. Para tanto, foi desenvolvido um material de divulgação da Clínica itinerante nos bairros (APÊNDICE I), um teatro de fantoche e um material educativo (APÊNDICE II) abordando tópicos como guarda responsável, principais zoonoses com enfoque na LVC, como ilustrado na Figura 3. A conscientização foi realizada com o apoio dos estudantes do curso de graduação em Medicina Veterinária da Universidade de Rio Verde (UniRV). A semana da conscientização foi realizada na semana anterior à "Clínica itinerante nos bairros", servindo como divulgação para a segunda etapa da pesquisa.



Figura 3 – Imagens fotográficas dos universitários do curso de graduação em Medicina Veterinária da Universidade de Rio Verde/Go (UniRV) que atuaram durante o trabalho de divulgação da Clínica itinerante nos bairros e de conscientização da população infanto-juvenil da região de estudo sobre a LVC, guarda responsável e controle da população canina. A e B universitários caracterizados como cães e gatos e C universitários atuando no teatro de fantoche durante apresentação nas escolas.

Durante o teatro de fantoche, os universitários conseguiram despertar o interesse da maioria das crianças, que se mostraram atentas e curiosas, principalmente no que se referia à parte da clínica médica, como sintomatologia de diversas enfermidades. A expectativa era dar início ao pensamento crítico das crianças em relação aos direitos e deveres da guarda responsável de animais, além da divulgação da “Clínica itinerante nos bairros”, para que assim essas informações fossem repassadas para os pais.

O grupo de apoio e estrutura tinha a responsabilidade de montar e desmontar a infra-estrutura da clínica itinerante durante os dias do evento, além de servirem como volantes ao longo dos dias. O grupo da identificação e conscientização era responsável por fazer a identificação de cada proprietário e seus animais, além de conscientizá-los sobre o projeto de pesquisa, em geral, os termos de consentimento livre e esclarecido (APÊNDICE III) e termo de consentimento animal (APÊNDICE IV) e as etapas da clínica itinerante nos bairros.

O grupo do diagnóstico de situação epidemiológica da saúde animal, da saúde pública e da saúde ambiental tinha a responsabilidade de aplicar o questionário semi-estruturado (APÊNDICE V) aos proprietários que manifestaram interesse e confirmaram participação no evento após a conscientização. O questionário abordou aspectos sócio-demográficos dos proprietários, as condições de saneamento e características das moradias, o conhecimento do comportamento e da dinâmica da leishmaniose, e a convivência e assistência veterinária dos cães.

O grupo do atendimento clínico era responsável pelo preenchimento do formulário de saúde animal (APÊNDICE VI), além do atendimento clínico propriamente dito. O grupo contenção e colheita de material trabalhou separado do atendimento clínico para facilitar o atendimento à população, assim eram responsáveis pela contenção animal e colheita de sangue para diagnóstico sorológico da LVC. E o último grupo, processamento laboratorial, era responsável pelo transporte das amostras de sangue colhidas no local do evento para o Laboratório de Patologia Clínica da Universidade de Rio Verde (UniRV), centrifugação das mesmas, identificação, alicotagem e congelamento.

A estrutura da clínica itinerante foi montada de uma forma que o proprietário seguisse um fluxograma (identificação e conscientização, seguida

do questionamento, atendimento clínico e colheita de material) para evitar pular alguma etapa.

#### **4.2.1. Aplicação do questionário**

O questionário (APÊNDICE V) foi aplicado aos proprietários, com mais de 18 anos de idade, de forma individual por pós-graduandos do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (Medicina Veterinária Preventiva) da FCAV/Unesp/Jaboticabal/SP, previamente capacitados. Sendo assim, a amostragem foi de acordo com a manifestação de interesse e confirmação na participação no evento após a conscientização e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O questionário abordou tópicos relacionados ao diagnóstico epidemiológico da saúde animal, da saúde pública e da saúde ambiental. Para o diagnóstico epidemiológico da saúde animal foram levados em consideração tópicos como diferentes espécies animais no domicílio, origem desses animais, grau de domiciliação dos mesmos e assistência médico-veterinária. No diagnóstico epidemiológico da saúde pública foram elencados itens como transmissão de enfermidades para o ser humano, como conseguiram informações sobre essas enfermidades e conhecimento mais específico sobre LV e LVC. Para o diagnóstico epidemiológico da saúde ambiental foram abordados itens relacionados à presença de animais domésticos (aves, caninos, equinos, suínos e bovinos), a árvores frutíferas e matéria orgânica (fezes destes animais, material vegetal) para que dessa forma fosse possível visualizar a interferência ambiental na emergência da enfermidade nesse local.

#### **4.2.2. Avaliação clínica dos cães**

A avaliação clínica dos cães foi realizada segundo o formulário de saúde animal (APÊNDICE VI). Para tanto, os cães foram contidos mecanicamente com a utilização de focinheira ou mordança e examinados pelos estudantes do curso de graduação em Medicina Veterinária da Universidade de Rio Verde (UniRV) sob supervisão do professor da área de Clínica Médica de Pequenos Animais. Os animais foram caracterizados como assintomáticos,

oligossintomático, os que apresentavam entre um e três sintomas e a sintomático, acima de três sintomas, de acordo com o formulário de saúde animal. Após a avaliação clínica o formulário veterinário era preenchido minuciosamente. O formulário veterinário foi desenvolvido com campos relativos à identificação e caracterização do animal, ao exame físico, a presença de sinais característicos da doença, aos dados epidemiológicos e ao tipo de material coletado.

### **4.3. Avaliação sorológica**

Os proprietários dos cães que tiveram o interesse e confirmaram a participação no projeto foram conscientizados sobre os objetivos do projeto de pesquisa e preencheram e assinaram o termo de consentimento animal. Assim, para a realização dos testes sorológicos, foram coletados cerca de cinco mL de sangue, sem anticoagulante, por punção da veia cefálica ou jugular. As amostras foram transportadas da clínica itinerante para o Laboratório de Patologia Clínica da Universidade de Rio Verde (UniRV), sob refrigeração. O sangue foi centrifugado para obtenção do soro e congelado até o momento da realização dos testes sorológicos.

As provas sorológicas empregadas foram DPP, realizado no Centro de Controle de Zoonoses do Município de Rio Verde/GO e os testes de RIFI e ELISA, no Laboratório de Imunoparasitologia do Departamento de Patologia Animal da FCAV/Unesp/Jaboticabal/SP.

Ao todo foram avaliadas 530 amostras de soros dos animais participantes da “Clínica itinerante nos bairros”. Essas amostras foram processadas, ELISA e RIFI, no Laboratório de Imunoparasitologia do Departamento de Patologia Veterinária da FCAV/Unesp/Jaboticabal/SP. O exame ELISA foi realizado nas 530 amostras, sendo as amostras reagentes processadas novamente na RIFI.

As amostras consideradas reagentes nos dois exames sorológicos foram separadas e a ficha de identificação, o questionário de diagnóstico de situação e o formulário veterinário dos mesmos foram novamente analisados. Os proprietários desses animais foram contactados para o agendamento de uma visita veterinária e nova colheita de sangue. Dos 20 animais reagentes três não

foram encontrados, sendo coletado sangue de 17 animais. Essas amostras foram centrifugadas e alíquotadas em eppendorfes. A alíquota de soro fresco foi utilizada para a realização Teste imunocromatográfico rápido em dupla plataforma (Dual Path Platform - DPP) no Centro de Controle de Zoonoses do Município de Rio Verde/GO.

#### **4.3.1. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)**

O ELISA-teste foi utilizado para avaliação sorológica de 530 amostras de cães. O teste utilizando antígeno total solúvel de *Leishmania chagasi*, foi realizado conforme descrito por Oliveira et al. (2008), com ligeiras modificações, para os soros de cães de áreas endêmicas.

Os ensaios de ELISA foram realizados em placas de fundo chato (Maxisorp, Nunclon TMSurface, Nunc. Denmark). Foram adicionados 100µL do antígeno solúvel de *L. chagasi*, diluído na concentração de 10 µg/mL em tampão carbonato-bicarbonato de sódio 0,05M, pH 9,6, em cada cavidade das microplacas. Após incubação da placa por 8 a 10 horas em câmara úmida a 4°C, o excesso de antígeno foi removido por três lavagens consecutivas, com tampão PBS 0,01M, pH 7,4, contendo 0,05% de Tween 20 (PBS-Tween 20). As placas foram bloqueadas com PBS-Tween 20, acrescido de 6% de leite em pó, em câmara úmida, a 37°C por 90 minutos. Após nova lavagem para retirada do bloqueador, foram adicionados, em duplicata, 100 µL dos soros testes e dos soros de referência positivos e negativos diluídos 1: 400 em PBS-Tween 20, com 5% de leite em pó desnatado.

As microplacas foram então novamente incubadas a 37°C por 90 minutos e lavadas, como descrito anteriormente; 100 µL do conjugado canino acoplado à fosfatase alcalina (Ig de coelho anti IgG de cão, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA, cat. # A-0793), diluído 1:4.000 em PBS-Tween 20, acrescido de 5% de soro de coelho, foram adicionados a cada cavidade da placa, seguindo-se nova incubação e lavagem como as anteriores. O substrato da enzima fosfatase alcalina (paranitrofenilfosfato diluído a 1mg/mL em tampão dietanolamina pH 9,8; Sigma-Aldrich, St. Louis, USA, cat. # N-9389) foi adicionado, incubando-se a reação por 30 minutos à temperatura ambiente.

Decorrido esse período, a leitura foi realizada em um leitor de microplacas de ELISA (Microplate Reader MRX TC Plus, Dynex Technology), a um comprimento de onda de 405 nm.

#### **4.3.2. Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)**

A RIFI foi utilizada para avaliação sorológica de 20 amostras reagentes no ELISA. A reação foi realizada conforme a técnica utilizada pelo Centro de Pesquisas Rene Rachou/FIOCRUZ, de Belo Horizonte/MG, para diagnóstico de animais infectados por *L.chagasi*.

O meio de cultura em que se encontravam os parasitas foi centrifugado a 735G, por dez minutos, e o sobrenadante descartado. Posteriormente, foram feitas três lavagens dos parasitas com solução de albumina bovina (BSA) a 1%.

Após a terceira lavagem, foi colocada uma solução de paraformaldeído a 4%, por 30 minutos, para a fixação dos parasitas. Com a fixação, os parasitas foram novamente lavados por três vezes com solução de BSA a 1%, e o “pallet” de parasitas ressuspendido em solução salina tamponada (PBS) até a concentração de  $3 \times 10^6$  a  $4 \times 10^6$  parasitos por mL.

Utilizando-se lâminas previamente demarcadas com círculos, foram colocados 10 $\mu$ L da suspensão de parasitas em PBS em cada círculo. Após secagem por 6 a 8 horas a temperatura ambiente, as lâminas foram devidamente embaladas em papel extra-fino e papel alumínio, e estocadas a -20°C, em recipiente hermeticamente fechado, até o momento do uso.

As lâminas preparadas foram retiradas do “freezer” e descongeladas em temperatura ambiente. Em cada círculo contendo o antígeno, foram dispensados 10 $\mu$ L de cada soro teste diluído na concentração de 1:40. As lâminas foram então incubadas em estufa bacteriológica na temperatura de 37°C, retiradas após 30 minutos e, a seguir, submetidas a três lavagens em PBS por imersão, de cinco minutos cada. Após secagem a temperatura ambiente, os círculos das lâminas foram recobertos com 10 $\mu$ L do anticorpo anti-IgG de cão conjugado ao isotiocianato de fluoresceína (KPL cat n\_ 02-19-02), diluído a 1:30, em solução PBS, contendo azul de Evans 1mg%. As lâminas foram novamente incubadas e lavadas conforme descrito acima. Após a

secagem das laminas, essas foram montadas com lamínula, utilizando-se glicerina tamponada a uma relação de 9:1 de glicerina/tampão carbonato-bicarbonato 0,5M pH 9,6 e, posteriormente, observadas em microscópio equipado para fluoresceína (Olympus, BX-FLA).

As amostras séricas positivas na diluição de 1:40 foram novamente testadas. Em cada círculo contendo o antígeno, foram dispensados 10 $\mu$ L das diluições sucessivas dos soros testes positivos. A titulação dos soros testes positivos foi realizada diluindo-se cada soro a partir de 1:40, base 2, até a negatificação do mesmo. Após a leitura em microscópio equipado para fluorescência, foram consideradas positivas as reações fluorescentes em soros com diluição  $\geq$  1:80.

#### **4.3.3. Teste imunocromatográfico rápido em dupla plataforma (Dual Path Platform - DPP) (BIO-MANGUINHOS, 2011)**

Para a avaliação pelo teste imunocromatográfico rápido (DPP) foram utilizadas amostras de soro, e a metodologia utilizada foi de acordo com as recomendações contidas no “kit, descrita abaixo.

Com um dispositivo fornecido pelo “kit”, coletou-se uma gota do soro (cerca 5 $\mu$ L) previamente descongelado e aplicou-se no poço de n° 1 do suporte do teste, sendo adicionado em seguida 2 gotas de tampão. Após 5 minutos, foi aplicado 4 gotas do mesmo tampão no poço de n° 2 e aguardou-se vinte minutos. O teste foi considerado positivo quando duas bandas, uma referente ao controle do teste e outra referente à amostra testada, aparecessem dentro de 15 minutos. O teste foi considerado negativo, quando apenas a banda referente ao controle apareceu. Caso nenhuma banda fosse visualizada, o teste seria considerado inválido e deveria ser repetido, utilizando outro “kit”.

#### **4.4. Geoprocessamento dos domicílios onde foram encontrados animais reagentes nos exames sorológicos ELISA e RIFI**

A partir dos dados de identificação dos proprietários contidos no termo de consentimento livre e esclarecido (APÊNDICE III) foi realizado o geoprocessamento dos domicílios onde foram encontrados animais reagentes nos exames sorológicos ELISA e RIFI realizados no Laboratório de Imunoparasitologia do Departamento de Patologia Animal da FCAV/Unesp/Jaboticabal/SP. O geoprocessamento foi realizado com auxílio do software TerraView 4.2.2. E a estrutura de independência contida no conjunto de dados foi avaliada pelos Índices de Moran local e global, utilizando o teste de pseudo-significância ( $\alpha < 0,05$ ). E mapas temáticos visualizaram estas distribuições espaciais.



## **5. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.1. Avaliação das condições de saúde animal, de saúde pública e de saúde ambiental relacionadas à LVC**

#### **5.1.1. Resultado do questionário**

A CI possibilitou a realização do diagnóstico epidemiológico, envolvendo as três esferas da saúde (animal, humana e ambiental) com a descrição geral do tipo criação de animal, da relação ser humano-animal, dos conhecimentos sobre a LVC, dos cuidados médico-veterinários com os animais e das características das moradias. Informações importantes para o desenvolvimento das ações de controle e prevenção da LVC na região do estudo.

As variáveis relacionadas ao diagnóstico epidemiológico da saúde animal estão apresentadas na Tabela 1. O cão, principal reservatório da LV, é o animal doméstico mais presente nas moradias estudadas, 97,12% (372/383) dos proprietários relataram como animal de estimação. O gato é o segundo animal mais citado, 27,67% (106/383), seguido das galinhas, patos e gansos 19,32% (74/383). O presente estudo se opõe ao encontrado por Maia et al. (2013), em trabalho semelhante em Petrolina/PE, onde apenas 33,3% relataram ter cães em casa e 14,2% possuíam criação de porcos e galinhas. A abertura de diversas formas de comércio, informais ou clandestinas, seja uma consequência, além de muitas vezes a população realizar criações para consumo próprio, obtendo a sua fonte de proteína animal. Esse dado é sustentado, não só pela quantidade de animais de produção relatados pelos participantes, mas também pelas respostas da parte ambiental obtidas neste estudo, em que quase metade dos entrevistados (49,60%, 190/383) citaram a criação de animais para consumo próprio, aves (96,31%, 183/190), Tabela 3.

Tabela 1 – Variáveis relacionadas ao diagnóstico epidemiológico da saúde animal realizado durante a Clínica itinerante nos bairros com a participação de 383 proprietários, Rio Verde/GO, 2015.

<b>Diagnóstico epidemiológico da saúde animal</b>			
	<b>Variáveis</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Animais que possui no domicílio?	Cão	372	97,12
	Gato	106	27,67
	Galinha, pato e ganso	74	19,32
	Periquito, pássaros e papagaio	46	12,01
	Coelho	5	1,30
	Peixes	3	0,78
	Jabuti	1	0,26
Como os animais foram adquiridos?	Presente/adoção	295	77,02
	Apareceu na rua	88	22,97
	Compra	31	8,09
	Nasceu no domicílio	26	6,78
Origem dos animais?	Rio Verde/GO	192	50,13
	Outros municípios do Estado de Goiás	17	4,43
	Mato Grosso	2	0,52
	São Paulo	3	0,78
	Distrito Federal	1	0,26
	NR	168	43,86
Como os animais são criados?	Quintal	278	72,58
	Dentro do domicílio	65	16,97
	Ambos os locais	64	16,71
	Rua	8	2,08
Os animais têm acesso à rua?	Sim	222	57,96
	Não	85	22,19
	NR	76	19,84
Caso afirmativo, como?	Com guia	136	61,27
	Solto	82	36,93
	NR	4	1,80
Se solto, por quanto tempo?	Curto período	56	68,30
	Longo período	22	26,82
	NR	4	4,88
Animais têm acesso à mata e rios?	Sim	74	19,33
	Não	300	78,33
	NS	9	2,34
Assistência médica-veterinária?	Sim	137	35,77
	Não	240	62,67
	NS	6	1,56
Animal ficou doente?	Sim	184	48,04
	Não	193	50,39
	NS	6	1,56
Animais soltos no bairro?	Sim	270	70,49
	Não	51	13,31
	NR	62	16,18
Quais animais	Cão	337	87,98
	Gato	207	54,04
	Equinos	13	3,39
	Galinha	9	2,34
	Bovinos	4	1,04
Quantidade de animais soltos	Poucos	39	10,18
	Muitos	314	81,98
	NR	25	7,83

NR = não respondeu  
NS = não sabe

Missawa et al. (2008) mostraram que a *L. longipalpis* se alimentou do sangue de aves (30,8%) e roedores (21,2%), embora também tenha sugado sangue de diversas outras espécies domésticas e silvestres, assim como do ser humano. Logo, vê-se que a presença de certos animais pode predispor ao aparecimento dos vetores, contribuindo para a transmissão da doença para os seres humanos, já que o vetor demonstra caráter oportunista de acordo com a ocasião e disponibilidade de alimento.

Todos os proprietários foram questionados sobre como e onde adquiriram esses animais, sendo 77,02% (295/383) ganharam e/ou adotaram, isso pode explicar a porcentagem do maior número de cães quando comparado a outras espécies, mostrando o apelo emocional que existe na aquisição desta espécie. Verificando a origem dos animais, 50,13% (192/383) tinham procedência do próprio município e 43,86% (168/383) não responderam.

Sobre a maneira que esses animais são criados, 72,58% (278/383) mantidos somente no quintal (área externa), 16,97% (65/383) dentro de casa (área interna) e 2,08% (8/383) comentaram que não existe controle da mobilidade desses animais (animais sem controle de mobilidade e sem supervisão). Desses, 57,96% (222/383) disseram que os animais têm acesso à rua, sendo que a maioria (61,27%, 136/222) relatou que saem para passear com os animais com guia. Apenas 19,33% (74/383) afirmaram que os animais tiveram acesso a matas e rios. Desta forma, a maneira como esses animais são manejados pelos seus tutores os tornam um fator de risco. Em estudo do vetor, Missawa et al. (2008) encontraram 30,8% (32/104) das fêmeas do vetor no intradomicílio e 69,2% (72/104) no peridomicílio. Isso confirma a prerrogativa de que cães vivendo fora de casa estão mais propensos a serem infectados e com isso perpetuar a enfermidade, contudo mostra também que o ambiente intradomiciliar não é livre do vetor, o que expõe o ser humano ao risco da doença, incluindo-o entre os afetados.

Quando questionados sobre a presença de animais soltos nas ruas dos bairros, 70,49% (270/383) dos proprietários relataram observar este tipo de problema, sendo o cão 87,98% (337/383) o animal mais citado, 54,04% (207/383) reclamaram do gato e 3,39% (13/383) dos equinos. Ximenes et al. (1999), ressaltam em seu estudo a preferência demonstrada pelo vetor em

cavalos, situação que serve de alerta para o Município de Rio Verde/GO, onde foi relatado a presença desses animais andando livremente pelas vias.

Em relação à quantidade de cães e gatos soltos nas ruas, 81,98% (314/383) comentaram sobre a grande quantidade desses animais. Conforme alguns autores (LAINSON, 1983; SCHIMMING; PINTO E SILVA, 2012) afirmam, o cão é a espécie perfeita para servir de reservatório do parasita no ciclo urbano, apontando assim a capacidade de reprodução desses animais como um fator que colabora para a franca expansão da enfermidade. Animais livres e sem tutores, sem dúvida compõe um dos pilares que devem ser atacados para reduzir a incidência de diversas enfermidades, não apenas a LVC. Para tanto, o controle de natalidade deve ser feito de forma sistemática, já que nesse caso o aumento do número de animais representa um agravo a saúde da população humana.

A maioria dos proprietários, 62,67% (240/383), relatou não ter assistência médico-veterinária e dos demais, 35,77% (137/383), apenas 11,68% (16/137) afirmaram que levam seus animais rotineiramente para consultas. E 50,39% (193/383) relataram que os animais não ficaram doentes nos últimos dois anos.

Nesse sentido, os proprietários foram questionados se esses animais doentes poderiam transmitir enfermidades para os seres humanos, sendo que 90,33% (346/383), a maioria, respondeu positivamente. Foram citadas, principalmente, as afecções dermatológicas, além de outras como raiva, doença do carrapato, problemas respiratórios e com menos ênfase a leishmaniose. Resultado semelhante foi observado quando perguntados sobre a possibilidade dos gatos transmitirem doenças, 89,03% (341/383) citaram, principalmente, problemas respiratórios e dermatológicos. Esses proprietários relataram que tiveram conhecimento dessas doenças por vizinhos, familiares e amigos (54,83%), pela televisão (22,71%) e escola (7,31). Esses números mostram a deficiência da educação e da informação que chega até a população. A escola tem papel fundamental nas ações de educação em saúde, ponto alto de qualquer programa de controle que deseja obter sucesso, pois a escola é tida como um ponto de difusão de informações e de formação de ideias, levando informação a quem precisa. Maia et al. (2013) ressaltaram a necessidade de implementar ações educativas para prevenção e controle da

LVA, situação que não difere da LVC, visando melhorar a compressão da população sobre os fatores de risco da doença, além da promoção do saneamento para as áreas com ocorrência.

Os resultados, enfatizando a relação animal-ser humano, estão apresentados na Tabela 2, juntamente com o diagnóstico epidemiológico da saúde pública. Direcionando o conhecimento para a LVC, os proprietários foram questionados sobre quais animais poderiam ser acometidos pela enfermidade, sendo o cão (40,73%) e gato (12,01%), citados pela maioria dos tutores. Sobre a possibilidade do cão transmitir essa doença para o ser humano, 73,36% (281/383) disseram não saber e apenas 20,36 (78/383) afirmaram com certeza. Dos tutores que tinham convicção de que o cão poderia transmitir a LV para o ser humano apenas 17,94% (14/78) relataram que o meio de transmissão seria o contato indireto pela picada do mosquito.

Quando os proprietários, em geral, foram questionados diretamente sobre a transmissão pela picada de mosquito 78,86% (302/383) responderam não ter conhecimento e 16,71% (64/383) afirmaram. Essa contrapergunta revelou que infelizmente esses proprietários desconhecem o mecanismo de transmissão dessa enfermidade e a epidemiologia do vetor. Não é uma exclusividade do trabalho, pois Weigel et al. (1994) em seu estudo relatavam que no Equador, embora a maioria das pessoas tivessem conhecimento sobre a enfermidade, um número restrito sabia como ocorria a transmissão. Tais dados ilustram a realidade de muitas regiões do país, assim como a do Município de Rio Verde/GO. A falta de conhecimento da população sobre a enfermidade leva ao retardo na busca por um possível diagnóstico e consequente tratamento pela doente (GAMA et al., 1998), deixando que a LV progrida de forma que na maioria das vezes ela se torne fatal.

O tratamento e a cura da doença no cão também foram indagados, sendo que 76,77% (294/383) afirmaram que a enfermidade não tem tratamento, mas 80,93% (310/383) responderam não ter conhecimento sobre a cura. E se o tratamento fosse possível, 22,98% (88/383) optaria pelo tratamento do animal.

Tabela 2 – Variáveis relacionadas ao diagnóstico epidemiológico da saúde pública realizado durante a Clínica itinerante nos bairros com a participação de 383 proprietários, Rio Verde/GO, 2015.

<b>Diagnóstico epidemiológico da saúde pública</b>			
<b>Variáveis</b>		<b>N</b>	<b>%</b>
Cães podem transmitir doença ao ser humano?	Sim	346	90,33
	Não	29	7,58
	NS	8	2,09
Quais?	Problemas dermatológicos	144	37,59
	Raiva	69	18,01
	Erliquiose	26	6,78
	Problemas respiratórios	24	6,26
	Leishmaniose	17	4,43
	Parvovirose	15	3,91
	Parasitoses	10	2,61
	NS	10	2,61
Gatos podem transmitir doença ao ser humano?	Sim	341	89,03
	Não	28	7,31
	NS	14	3,66
Quais?	Problemas respiratórios	147	38,38
	Problemas dermatológicos	53	13,83
	Toxoplasmose	20	5,22
	Raiva	18	4,69
	Leptospirose	8	2,08
	Leishmaniose	5	1,30
	NS	17	4,43
Como obteve essas informações?	Vizinhos, parentes e amigos	210	54,83
	TV	87	22,71
	Escola	28	7,31
	Panfletos	23	6,0
	Agente de saúde	15	3,91
Animais que são acometidos pela LVC?	Cão	156	40,73
	Gato	46	12,01
	Roedores	24	6,26
	Ser humano	18	4,69
	Animais selvagens	7	1,82
	NS	27	7,04
Cão transmite LV para ser humano?	Sim	78	20,36
	Não	24	6,26
	NS	281	73,36
Como?	Contato direto	31	39,74
	Picada de mosquito	14	17,94
	Saliva	10	12,82
	Fezes/urina	10	12,82
	NS	13	16,78
LVC é transmitida pela picada de mosquito?	Sim	64	16,71
	Não	17	4,43
	NS	302	78,86
É o mesmo que transmite a dengue?	Sim	16	4,18
	Não	34	8,88
	NS	333	86,94
LVC tem cura?	Sim	57	14,89
	Não	16	4,18
	NS	310	80,93
Existe tratamento para o cão?	Sim	77	20,10
	Não	294	76,77
	NS	12	3,13
Faria o tratamento no seu animal?	Sim	88	22,98
	Não	1	0,26

	NS	294	76,76
Existe vacina para LVC?	Sim	55	14,36
	Não	320	83,55
	NS	8	2,09
Vacina seu animal?	Sim	205	53,52
	Não	2	0,52
	NS	176	45,96
Conhece as medidas de controle e prevenção da LVC?	Sim	128	33,42
	Não	248	64,76
	NS	7	1,82
Quais?	Cuidado e higiene com animal	37	28,90
	Vacinação	10	7,81
	Retirada de carrapatos	3	2,34
	Limpeza dos quintais	5	3,90

NR = não respondeu  
NS = não sabe

Sobre o controle e prevenção da LVC 83,55% (320/383) os entrevistados negaram saber sobre a existência da vacina, mas vacinariam (53,52%) seus animais como medida preventiva. Embora pouco frequentes e conhecidas, até o ano de 2014, estavam disponíveis no mercado duas vacinas, a Leishmune<sup>®</sup> e a Leish-Tec<sup>®</sup>, contudo a nota técnica 38/2014 (BRASIL, 2014) suspendeu a primeira, devido a problemas técnicos na fase III, não cumprindo todos os requisitos expressos na Instrução Normativa (IN) Interministerial nº 31/2007. Assim a Leish-Tec<sup>®</sup> é a única comercializada atualmente, embora disponível apenas na rede particular. Tal situação pode mudar em breve, pois tramita na câmara o Projeto de Lei nº 1.738, de 2011, pretende instituir a Política Nacional de Vacinação contra a Leishmaniose Animal, com o objetivo de prevenir e controlar a doença (BRASIL, 2014).

Segundo os estudos realizados pelo Laboratório Hertape (PORTAL BRASIL, 2014) a vacina protegeu 96% dos animais que foram vacinados. Logo a vacinação, embora tímida, parece ser uma maneira interessante de prevenir a enfermidade nos humanos, semelhante ao que ocorre na profilaxia da raiva urbana, vacinando os animais. A maioria, 64,76% (248/383) desconhece as medidas de controle e prevenção da doença, citando exemplos como cuidados e higiene com o animal, vacinação e apenas uma minoria citou o combate do mosquito.

Após as medidas de controle e prevenção os proprietários foram indagados sobre as características ambientais das moradias que poderiam influenciar na história natural da doença. Desta forma, os resultados sobre o

diagnóstico epidemiológico da saúde ambiental estão dispostos na Tabela 3. Os proprietários relataram que moram nos bairros estudados há mais de dois anos (72,84%, 279/383) e a casa própria é característica da maioria dos entrevistados, 78,85% (302/383).

Tabela 3 – Variáveis relacionadas ao diagnóstico epidemiológico da saúde ambiental realizado durante a Clínica itinerante nos bairros com a participação de 383 proprietários, Rio Verde/GO, 2015.

<b>Diagnóstico epidemiológico da saúde pública</b>			
	<b>Variáveis</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Quanto tempo reside na moradia	< 1 ano	54	14,09
	Ano	33	8,61
	2 anos	11	2,87
	> 2 anos	279	72,84
	NR	6	1,59
Situação da moradia	Própria	302	78,85
	Alugada	50	13,05
	Cedida	20	5,22
	NR	11	2,88
Possui rede de esgoto	Sim	53	13,83
	Não (fossa)	322	84,07
	NS	8	2,10
Possui quintal	Sim	362	94,51
	Não	14	3,65
	NR	7	1,84
Possui árvore no quintal	Sim	222	57,97
	Não	143	37,33
	NR	18	4,70
Árvore frutífera	Sim	195	87,83
	Não	15	6,75
	NR	12	5,42
Manejo das folhas e frutos no solo	Semanal	156	70,28
	Quinzenal	4	1,80
	Mensal	19	8,56
	Período mais longo	6	2,7
	NS	18	8,10
	NR	19	8,56
Vizinhos criam animais de produção	Sim	190	49,60
	Não	186	48,56
	NS	7	1,84
Quais	Aves	183	96,31
	Suínos	7	3,68
	Bovinos	1	0,52
	Caprinos	1	0,52
Rua da sua moradia é asfaltada	Sim	364	95,04
	Não	12	3,14
	NR	7	1,82
Animal que prejudique bem estar dos moradores no bairro	Sim	302	78,86
	Não	74	19,32
	NS	7	1,82
Quais	Barata	212	55,35
	Mosquito	182	47,51
	Rato	167	43,60
	Mosca	18	4,69
	Escorpião	17	4,43



	Sapo	12	3,13
	Gato	3	0,78
	Cão	2	0,52
Mosquito palha, birigui, tatuquira ou cangalhinha está presente no bairro	Sim	10	2,61
	Não	49	12,80
	NS	324	84,59
Coleta de lixo no bairro	Sim	373	97,38
	Não	2	0,54
	NS	8	2,08
Frequência	1 vez por semana	6	1,60
	2 vezes por semana	88	23,60
	3 vezes por semana	279	74,80

NR = não respondeu

NS = não sabe

Essas casas não possuem rede de esgoto, mantendo-se ainda o uso de fossas em 84,07% (322/383) dos casos, corroborando Maia et al. (2013) que em estudo apontaram que em apenas 4% das residências possuíam esgoto encanado. Com relação ao quintal, 94,51% (362/383) relataram possuir, sendo 57,97% (222/383) com árvores e dessas 87,83% (195/222) sendo frutíferas. Sobre o manejo da matéria orgânica resultante dessas árvores, 70,28% (156/222) dos proprietários relataram retirar as folhas e frutos do solo pelo menos uma vez por semana.

Embora o ciclo completo do vetor, desde a postura até a sua forma adulta, possa variar de acordo com o ambiente de 30 a 40 dias (BRASIL, 2014), a retirada a matéria orgânica deve ser muito bem realizada, não deixando nenhum substrato no local, pois uma vez que o ovo tenha eclodido, a larva pode entrar em estado de dormência (situação de resistência) caso as condições locais não sejam favoráveis ao seu desenvolvimento. Portanto é fundamental que os munícipes tenham essa consciência, principalmente aqueles que dentre seus animais, os de produção estão incluídos. A coleta de lixo não parece ser um problema, já que 97,38% (373/383) relatam a existência do serviço. Maia et al. (2013) relatam que 90,48% possuíam recolhimento de resíduos sólidos.

Os entrevistados afirmaram, 78,86% (302/383) a existência de animais que prejudicassem o bem estar dos moradores nos bairros estudados, sendo mais citados a barata, o mosquito e o rato. Com relação aos mosquitos, 84,59% (324/383) dos proprietários não tinha o conhecimento da presença do mosquito palha, birigui, tatuquira, cangalhinha no bairro. Desta forma, se a população desconhece a presença deste mosquito também deve desconhecer

seus hábitos, intra e peridomiciliar, e que sua atividade geralmente é mais intensa ao entardecer e durante a noite, informações importantes para o controle e prevenção da LVC e LV.

### **5.1.2. Resultados da avaliação clínica dos cães**

A classificação dos animais segundo os sinais clínicos apresentados foi realizada nos animais que foram reagentes no ELISA e na RIFI. Dos 20 animais que se apresentaram como reagente nos exames, 65% (13/20) foram classificados como assintomáticos (ausência de sinais clínicos), 35% (7/20) em oligossintomáticos (com três sinais clínicos no máximo) e nenhum animal como sintomático (a partir de três sinais clínicos característicos), de acordo com a classificação de Mancianti (1988). Não foi encontrado alterações significativas de LVC, que fossem sugestivas ao exame clínico, realizado pelo Médico Veterinário no momento da colheita de sangue, situação semelhante a encontrada por outros autores (DANTAS-TORRES et al., 2006; SANTOS et al., 2010).

Os animais estudados por Aguiar et al. (2007), de acordo com a condição clínica seguiram a mesma classificação, sendo 65% (39/61) oligossintomáticos, incluindo animais de pelos opacos e/ou alopecia localizada com ou sem perda, e 35% (21/61) polissintomáticos ou sintomáticos, possuindo perda de peso severa, onicogrifose, lesões cutâneas, apatia, ceratoconjuntivite, entre outras. Já Calado (2014) em seu estudo, é divergente, relata apenas 8,4% (2/24) de animais assintomáticos, 50% (12/24) oligossintomáticos e 41,6% (10/24) eram polissintomáticos. Queiroz et al., (2010), relatam ocorrência semelhantes.

Os principais sinais encontrados na avaliação clínica dos animais que foram reagentes nos exames sorológicos ELISA e RIFI durante a Clínica Itinerante nos bairros do Município estão descritos na Tabela 4. Dos animais 5% (3/20) apresentaram apetite diminuído, escore corporal magro e linfonodo poplíteo aumentado. E com relação às alterações dermatológicas, 35% (7/20)

apresentaram pelos quebradiços, descamação da pele e alopecia periocular, sendo 28,58% (2/7) bilateral.

Tabela 4 - Principais sinais clínicos encontrados na avaliação clínica dos animais que foram reagentes nos exames sorológicos ELISA e RIFI durante a Clínica itinerante nos bairros, Rio Verde/GO, 2015.

<b>Avaliação clínica dos cães</b>			
	<b>Variáveis</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Apetite	Normal	16	80%
	Mais que o usual	1	15%
	Menos que o usual	3	5%
Escore corporal	Normal	17	85%
	Magro	3	15%
Linfadenopatia	Ausente	17	85%
	Presente	3	15%
Quais	Poplíteo	3	100%
Hepatomegalia	Sim	0	-
	Não	20	100%
Esplenomegalia	Sim	0	-
	Não	20	100%
Coloração de mucosas	Normais	12	60%
	Hipocoradas	5	25%
	Ictéricas	3	15%
Narinas	Normais	20	100%
Tamanho das unhas	Normais	20	100%
Pêlos	Normais	13	65%
	Quebradiços	7	35%
Dermatopatias	Ausente	13	65%
	Alopecia	7	35%
Local da alopecia	Periocular	5	71,42%
	Bilateral	2	28,58%
Pele	Descamação	7	100%
Administração de vacinas	Sim	9	45%
	Não	11	55%
Quais	Raiva	9	100%

Freitas et al. (2012) ao avaliaram os parâmetros clínicos de cães naturalmente infectados por *L. chagasi*, selecionados pela RIFI, no Município de Fortaleza, verificam que os sinais clínicos mais frequentes foram caquexia, conjuntivite e linfadenopatia. A semelhança deste estudo, Dias (2008) ao estudar a enfermidade em 27 animais, relata diversas alterações, dentre elas linfadenopatia (55,6%), condição corporal magra (33,3%), alterações oftálmicas (29,6%), crostas e descamações (18,5%) e alopecia periocular (7,4%).

O número de cães considerados positivos pelo ELISA e a RIFI foi pequeno, quando comparado ao total estudado. Embora, a maioria, tenha se apresentado sorologicamente reagentes, foram classificados como assintomáticos, situação esta que levanta um alerta para os profissionais da

área da saúde, principalmente para os médicos veterinários do Município de Rio Verde/GO. Tal averiguação ressalta a presença da enfermidade, e que está de forma silenciosa se espalhando pela região.

A ocorrência de animais com ausência de sinais clínicos, embora infectados, pode ser explicada pela dinâmica imunológica de cada animal. Solano-Gallego et al. (2011) mostram que, uma vez que o parasita tenha driblado a resposta imune inespecífica do organismo, o sistema imune a partir de respostas específicas vai tentar contê-lo. Pode ser então, que o animal desenvolva uma resposta baseada em células CD4+Th1 ou Th2. Quando se observa uma expressão de Th1, encontra-se também citocinas como IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL 2 e 12, responsáveis pela ativação de macrófagos que serão responsáveis pela destruição da forma intracelular do parasita. Pode-se afirmar que essa é a patogenia que se desenvolve nesses animais assintomáticos, podendo ser classificados como resistentes a enfermidade, onde as defesas do organismo conseguem se manter em equilíbrio com os ataques dos parasitas (STRAUSS-AYALI et al., 2005; SILVA, 2007; REIS et al., 2009).

Já naqueles animais que apresentaram algum sinal clínico, a resposta desenvolvida está relacionada com a expressão celular Th2, resposta imune humoral. É responsável pela produção de diversas citocinas, como IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13 que estimulam os Linfócitos B a se proliferarem e iniciarem a produção de imunoglobulinas em grande quantidade (PINELLI et al., 1994; 1999; BARBIERI, 2006). Logo, senão todas, mas a maior parte das alterações clínicas, são decorrentes da hiperglobulinemia. Embora, existam altos títulos de anticorpos circulantes, estes não são protetores. Assis et al. (2010) comprovaram em estudo, que quando eram detectados altos títulos de anticorpos anti-*L. (L.) chagasi*, os órgãos se encontravam fortemente parasitados. Além disso, são responsáveis pela formação de imunocomplexos que se depositam na membrana basal de vários órgãos (SLAPPENDEL, 1988; MARTINEZ-MORENO et al., 1995), ocasionando diversas lesões, sendo muitas vezes determinante no agravamento da enfermidade.

Como evidenciado em diversos trabalhos, cães infectados podem apresentar uma gama de sinais clínicos, variando desde a não existência de sinais ou falso estado sadio, até uma clínica de caráter crônico e sistêmico,

afetando diversos órgãos chegando a caquexia e morte no estágio final (AGUIAR et al., 2007). Os cães domésticos possuem um intenso parasitismo de pele, podem permanecer meses e até anos sem desenvolver a forma clínica da doença, residindo próximo ao ser humano, favorecendo o ciclo da doença (DANTAS-TORRES, 2007). Assim, segundo Cardoso et al. (2007), os animais assintomáticos são a maioria na população canina infectada, assim como no presente estudo, gerando uma preocupação e importância epidemiológica. Portanto a detecção desses animais em áreas endêmicas ou não, é de extrema importância, pois através destes animais é que a doença se perpetua de forma a amplificar-se chegando a população humana.

## 5.2. Avaliação sorológica

A avaliação sorológica foi realizada em 530 amostras de soros dos animais participantes da “Clínica itinerante nos bairros”. O exame ELISA foi realizado nas 530 amostras, sendo 10,38% (55/530) consideradas reagentes. Estas amostras reagentes no ELISA foram processadas novamente na RIFI, sendo consideradas reagentes 36,37% (20/55), como demonstrado na Tabela 5. Dos 20 animais reagentes nos dois exames sorológicos três não foram encontrados nos domicílios na visita seguinte, sendo coletado novamente sangue desses 17 animais para a realização do Teste imunocromatográfico rápido em dupla plataforma (Dual Path Platform - DPP). No teste imunocromatográfico todas as amostras foram consideradas não reagentes.

Tabela 5 - Avaliação sorológica (ELISA, RIFI e DPP) realizada nos soros dos animais participantes da “Clínica itinerante nos bairros” realizada no Laboratório de Imunoparasitologia do Departamento de Patologia Veterinária da FCAV/Unesp/Jaboticabal/SP, e no Centro de Controle de Zoonoses do Município de Rio Verde/GO, 2015.

Amostras	AVALIAÇÃO SOROLÓGICA					
	ELISA		RIFI		DPP	
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
530	55	475	-	-	-	-
55	-	-	20	35	-	-
17	-	-	-	-	0	17

Com base no protocolo vigente até 2011, estabelecido pelo MS, apenas 10,4% (55/530) das amostras foram reagentes no ELISA, resultado próximo ao encontrado por Assis et al. (2010), que ao utilizarem o mesmo protocolo em cães assintomáticos, sabidamente infectados, obtiveram 12,5% de animais com anticorpo antileishmania. Desses 10,4%, 36,4% (20/55) foram confirmadas pela RIFI no presente estudo, com títulos  $\geq 40$ . Embora Barbosa-de-Deus et al. (2002) e Machado et al. (2007) afirmem que não exista prejuízo no diagnóstico da LVC, devida a diferença de antígeno utilizado na confecção do kit da IFI, pode-se apontar uma divergência entre os antígenos das técnicas utilizadas no presente estudo, pois o ELISA foi confeccionado segundo a técnica de Oliveira et al. (2008), que faz uso de antígenos provenientes da *L. chagasi*, parasita causador da doença e a IFI pelo Kit da Bio-Manguinhos. Isso corrobora Baleeiro et al. (2006) que aponta diferenças significativas, diminuindo a reatividade ao se usar antígenos de *L. major* em soro de cães. Essa diferença de aproximadamente 7% entre os resultados do ELISA e da RIFI neste estudo, embora pequena, são relevantes se tratando de uma enfermidade tão grave, mostrando que esse “detalhe” de metodologia por ter influenciado na menor taxa de confirmação dos animais reagentes pelo ELISA, não confirmados pela RIFI.

Em estudo realizado por Domingos et al. (2012), a RIFI detectou um maior número de animais infectados, se comparado ao ELISA e ao TR DPP<sup>®</sup>, quando aplicado em animais assintomáticos. Romero e Boelaert (2010) afirmam em pesquisa publicada que a sensibilidade da RIFI variou de 72% a 100% e a do ELISA de 30% a 98% em animais assintomáticos, ambos comparados ao exame parasitológico.

Numa segunda etapa deste estudo foi realizado o TR DPP<sup>®</sup> nas 17 (530) amostras que foram previamente qualificadas como reagentes pelo ELISA e em seguida confirmados pela RIFI. Para o teste rápido foi obtido uma nova amostra, as quais todas foram negativos para a imunocromatografia. Resultado similar foi encontrado por Santos et al. (2010), que utilizando o Kala-azar Detect<sup>®</sup> (teste imunocromatográfico, que possui membranas impregnadas com a proteína recombinante rK39), testaram 18 amostras previamente positivas na

RIFI. Dantas-Torres et al. (2006) em Pernambuco, ao fazerem uso do mesmo teste com a proteína rK39, obtiveram os mesmos resultados.

Embora conste que o TR DPP<sup>®</sup> apresenta sensibilidade de 93 a 100% e especificidade de 92 a 100% (CRMV-PR, 2015), os presentes achados corroboram Grimaldi et al. (2012), que ao testarem o TR DPP<sup>®</sup>, encontraram baixa sensibilidade (47%) em cães assintomáticos, situação esta que se inverte quando testado em cães sintomáticos onde a sensibilidade pode chegar a 98%, ressaltando, que o tipo de resposta imune desenvolvida pelo hospedeiro pode influir significativamente na detecção pelos testes.

Ao comparar os testes ELISA e o TR DPP<sup>®</sup> utilizados para detectar anticorpos antileishmania nas amostras, pode-se averiguar uma discrepância, 14% e 0%, respectivamente. Tal situação poderia ter se modificado caso tivessem sido testados todos os animais que foram reagentes no ELISA, e não somente na RIFI, pois se tratando de animais assintomáticos é possível que o antígeno presente na RIFI não seja capaz de detectar a diminuta quantidade de anticorpos presentes no soro. Estes resultados se opõem aos relatados por Domingos et al. (2012), que encontraram sensibilidade de 83,2% para ambos os testes em animais previamente conhecidos como positivos para LVC. Já Reithinger et al. (2002) e Otranto et al. (2005), ao estudarem cães sintomáticos e assintomáticos encontraram dados semelhantes aos de Domingos et al. (2012) para o ELISA e os testes imunocromatográficos que, assim como o TR DPP<sup>®</sup>, utiliza a proteína rK39.

Pesquisadores como Costa et al. (2003) informam uma sensibilidade de 96% e especificidade de 100% com o uso da proteína rK39 em testes diagnósticos, divergindo da proteína rK26 que, embora apresente a mesma especificidade é menos sensível que a anterior. Comparando-se com o teste rápido utilizado, este possui ainda mais 2 proteínas, o que aumentaria a taxa de detecção da LVC, contudo, essa prerrogativa não pôde ser confirmada neste estudo.

Segundo Courtenay et al. (2002), o estado clínico geral do animal se relaciona com o tipo de resposta imune desenvolvida, de forma que cães infectados desenvolvem altos títulos de anticorpos, destacando-se da classe IgG (FERRER, 2002), que estão relacionados diretamente com a

sintomatologia e não com a proteção do organismo. A soroconversão pode ocorrer segundo alguns autores (FERRER, 2002; BARBIÉRI, 2006; MARTINEZ-SUBIELA et al., 2011) com a produção de anticorpos específicos de três a cinco meses após a infecção. Infere-se, portanto, que a não detecção no teste rápido pode ser decorrente de uma infecção recente (PINELLI et al., 1994), com uma produção, ainda, pequena de anticorpos específicos ou devido ao tipo de resposta imune desenvolvida pelo animal, pois cães assintomáticos tendem a desenvolver maior resposta celular do que humoral, com padrão de resposta Th1, sendo mediada por diversas citocinas. Assim, é possível que haja resistência natural do organismo do cão ao parasita, situação esta que pode dificultar a detecção de animais por testes sorológicos.

Em estudo Domingos et al. (2012), mostram que, embora os testes (ELISA e TR DPP<sup>®</sup>) apresentem sensibilidades iguais, a sua concordância é ruim. Isso evidencia que talvez o novo protocolo não seja tão confiável como o anterior, sendo passível de omitir animais infectados, ou seja, falsos-negativos. Isso pode acarretar um aumento do agravo, visto que, permanecerão no ambiente mais animais infectados e que na maioria das vezes não apresentam sinais sugestivos da LVC, servindo de fonte de infecção para novos mosquitos poderem disseminar ainda mais o agente.

Falqueto et al. (2009) afirmam que a resposta humoral que se desenvolve em animais infectados pela *Leishmania*, na sua maioria envolve múltiplos antígenos e não apenas alguns pré-definidos, os quais podem ser reconhecidos de maneiras diferentes em cada organismo e de acordo com a progressão da enfermidade. Além disso, constata também que o uso de testes em paralelo combinado ao uso de uma maior diversidade de antígenos nos testes é capaz de aumentar a taxa de detecção da enfermidade nos animais, uma vez que a falha de um teste é coberta pelo outro (PORROZZI et al., 2007).

Assim, talvez seria melhor implementar o protocolo com opções de testes a serem utilizados de acordo com determinado grupo de animais, pensando principalmente nos animais assintomáticos e sintomáticos, indicando a melhor opção para cada caso, com base nas deficiências que cada teste apresenta buscando superá-las. Com isso seria possível abranger cada vez mais casos, ampliando a extensão diagnóstica do país, buscando trazer a luz da notificação animais infectados e que muitas vezes são tidos como não



reagentes, trazendo riscos à população e a consequente perpetuação da enfermidade.

Portanto, é interessante que caso ocorram discrepâncias de resultados entre as metodologias escolhidas, busque-se repetir os exames após no mínimo um mês. Sendo o tempo necessário para ocorrer uma possível mudança imunológica no animal. Aliado a isso, sempre deve ser considerado o estado clínico do animal junto ao ambiente em que reside, de modo que se houverem dúvidas, a eliminação do cão não deve ser a primeira opção.

#### 5.4. Geoprocessamento dos domicílios onde foram encontrados animais reagentes nos exames sorológicos ELISA e RIFI

As imagens abaixo, Figuras 4 e 5, ilustram a distribuição espacial dos domicílios onde foram encontrados animais reagentes nos exames sorológicos ELISA e RIFI. Foram estudados 383 domicílios, desses 12,53% (48/383) apresentaram animais considerados reagentes no ELISA. E desses 12,53%, 41,67% (20/48) apresentaram animais reagentes também na RIFI. De acordo com a ilustração, animais reagentes no ELISA e RIFI estão localizados em moradias próximas, ou seja, animais reagentes estão em área delimitada.



Figura 4 - Imagem da distribuição espacial dos domicílios dos 55 animais considerados reagentes no ELISA (amarelo) e desses os 20 animais considerados reagentes também na RIF (vermelho). A) Visão geral da distribuição dos animais considerados reagentes na avaliação sorológica. B) Identificação individualizada dos animais considerados reagentes na avaliação sorológica. Rio Verde/GO, 2015.

Desses 48 domicílios localizados, 8,4% (4/48) apresentam simultaneamente animais reagentes nas duas avaliações sorológicas e animais reagentes apenas no ELISA. Desses 8,4% domicílios, um deles o proprietário relatou que a família tem origem no Rio Grande do Norte e em outro o proprietário relatou a morte de um dos animais da família.



**Figura 5** - Imagem da distribuição espacial dos domicílios dos 55 animais considerados reagentes no ELISA (amarelo) e desses os 20 animais considerados reagentes também na RIF (vermelho), com identificação individualizada dos animais considerados reagentes e identificação da localização.

## **6. CONCLUSÃO**

O diagnóstico de situação epidemiológica da leishmaniose visceral canina na região norte do Município de Rio Verde/GO possibilitou concluir que a população, cão e ser humano, e o local estudados apresentam características favoráveis ao desenvolvimento da LVC e conseqüentemente da LV. Desta forma, existe a necessidade de profissionais capacitados para realizar diagnóstico preciso da enfermidade, além de iniciar e dar continuidade às ações de controle e prevenção dessas enfermidades. Aliado ao fato da readequação do protocolo de diagnóstico, pelas autoridades competentes, para diferentes situações epidemiológicas.

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O termo saúde é abrangente levando em consideração que as enfermidades são multifatoriais, não estando ligadas a uma ou outra causa exclusivamente e sim a diversos fatores que se relacionam. Assim, fica evidente a importância da atuação multiprofissional, destacando a Medicina Veterinária, na rápida identificação de agravos e principalmente na promoção da saúde por meio da prevenção de doenças e agravos, principalmente levando em conta a LV.

Nesse contexto, o conceito “Um mundo, uma saúde”, construído pela Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO), Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), Organização Mundial de Saúde (OMS) e Fundação das nações unidas para a infância (Unicef), objetiva a expansão da colaboração das diferentes esferas da saúde, buscando ampliar a comunicação e união entre as profissões, com um único intuito, a saúde dos seres humanos, dos animais e do ambiente, controlando, prevenindo e promovendo enfermidades.

O Município de Rio Verde/GO cresceu de forma desordenada nos últimos 20 anos, do ponto de vista estrutural e populacional. O crescimento aconteceu sem planejamento, adentrando em regiões impróprias de mata ciliar sem a mínima infraestrutura, destacando-se saneamento básico, fator determinante para promover a proliferação de agentes infecciosos além de seus inúmeros vetores. Paralelamente, a LV que era considerada uma enfermidade rural ou de áreas florestais, teve o número de casos aumentado consideravelmente no meio urbano. Constituído-se, assim, um novo cenário, que apresentou condições favoráveis à instalação e manutenção do vetor e conseqüentemente da enfermidade no município.

A leishmaniose é uma enfermidade de notificação compulsória e possui forte impacto na saúde pública. Tendo em vista a constatação de casos humanos de LV, não autóctones, e de cães com sorologia positiva no Município de Rio Verde/GO é necessário que os médicos veterinários estejam preparados para atuar e diagnosticar de forma precoce a enfermidade nos animais, evitando a transmissão local aos seres humanos. Essas ações de controle e prevenção da leishmaniose, embasada no conceito “Um mundo,

uma saúde”, devem acontecer independente da área de atuação profissional, seja no setor privado, como na clínica de pequenos animais, ou no setor público, como no Sistema Único de Saúde (SUS), desenvolvendo atividades de vigilância em saúde. Assim, para que o sucesso seja atingido, reduzindo o número de casos novos, essa atuação deverá envolver diversos setores da administração pública, com parcerias interinstitucionais, além da parceria público-privada. É válido ressaltar que, essa enfermidade, assim como tantas outras, não é de responsabilidade apenas do setor “saúde”, envolvendo outros setores, como meio ambiente, educação, obras, além da participação ativa dos munícipes, na eliminação dos criadouros.

O papel do clínico de pequenos animais no município é muito importante para a detecção da doença e a sua consequente notificação, pois em grande parte dos casos é esse profissional quem vai ter o primeiro contato com o animal doente. O clínico deve se manter atualizado sobre diversos aspectos da LVC, como a cadeia epidemiológica e respectivas modificações, os sinais clínicos, os métodos de diagnóstico e as medidas de controle e prevenção. O profissional no momento da anamnese deve explorá-la o máximo possível, buscando o maior número de informações sobre a saúde do animal, o local em que vive e também sobre a saúde de seus respectivos tutores. Desta forma, o médico veterinário passará de apenas um médico de indivíduos, como vem se comportando ao longo de vários anos à semelhança da medicina humana, para um médico veterinário de populações, praticando saúde pública. Essa importância é igual ou maior no momento da escolha do método diagnóstico, do prognóstico e principalmente na conscientização dos tutores com relação ao impacto que a decisão deles gerará na população em um caso positivo.

É válido ressaltar que o profissional deve observar o código de ética do médico veterinário, assim como os princípios básicos de saúde pública, a legislação de proteção aos animais e as normas do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV), promovendo a eutanásia dos casos justificados, de acordo com a legislação vigente.

Após a detecção do animal positivo, de acordo com o protocolo atual, deve-se proceder a notificação ao órgão competente e posteriormente é recomendada a eutanásia, já que não há, até o momento, nenhum tratamento que promova a cura completa do animal, mantendo-o como reservatório. O

profissional deve, conforme o código de ética, realizar a eutanásia, observando os princípios básicos de saúde pública. A eutanásia deve ser realizada seguindo a legislação vigente, Resolução CFMV nº 1000/2002, que dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais.

O clínico deve elaborar o termo de consentimento do proprietário para procedimento de eutanásia, Resolução CFMV nº 1071/2014. Caso o proprietário se recuse a realizar a eutanásia, o profissional deve lavrar o termo de responsabilidade por recusa à eutanásia. Este termo deve deixar claro que o proprietário está ciente dos riscos à saúde pública ocasionados pela recusa da eutanásia e que tem conhecimento das sanções legais que lhe podem ser aplicadas. Após a eutanásia, o profissional deve lavrar o atestado de óbito do animal, Resolução CFMV nº 844/2006 que dispõe sobre o atestado de óbito animal.

No setor público, as ações de controle e prevenção da LV no SUS podem ser desenvolvidas pelo médico veterinário na vigilância em saúde e na atenção básica. Na vigilância em saúde o profissional pode atuar na vigilância ambiental no centro de controle de zoonoses. Já na atenção básica pode desenvolver atividades no Núcleo de Apoio à Saúde da Família (NASF) junto as Estratégias de Saúde da Família (ESF).

A Vigilância em Saúde, componente do Sistema Único de Saúde (SUS) está embasada em quatro pilares: a Vigilância Epidemiológica, a Vigilância Sanitária, Vigilância em Saúde Ambiental e Vigilância em Saúde do Trabalhador.

As ações desenvolvidas pelo médico veterinário na vigilância epidemiológica estão alicerçadas na busca e na obtenção de dados como ferramentas para os programas de controle, prevenção e erradicação de enfermidades. O principal instrumento do profissional é o levantamento epidemiológico e os recursos de obtenção de dados, que incluem os mecanismos de vigilância passiva, como a notificação da LVC, assim como ativa, através de inquéritos soro epidemiológicos.

Na vigilância ambiental o profissional também atua nas ações de promoção e proteção à saúde da população, desta vez, monitorando e controlando problemas decorrentes do desequilíbrio ambiental, visando eliminar ou reduzir a exposição humana a fatores ambientais prejudiciais à

saúde. Na divisão de controle de vetores, atua na prevenção da infecção mediante o bloqueio ou redução da transmissão, objetivando manejar os problemas existentes (surtos, epidemias, alta mortalidade e alta morbidade), prevenir epidemias ou a reintrodução de doenças e reduzir os fatores de risco ambiental da transmissão. Assim, o controle da *Lutzomyia longipalpis* engloba várias ações que devem estar adequadas à realidade do Município de Rio Verde/GO, permitindo a execução das mesmas de forma integrada. Tal atividade torna-se complicada quando é levada em consideração a complexidade do meio urbano e a capacidade de adaptação da espécie *Lutzomyia longipalpis* nesse meio.

No controle desse vetor o profissional deve procurar associar ações de controle ambiental, controle social e por último o controle químico, tendo em vista que este último não funciona de forma eficaz para o vetor da LVC. No controle ambiental deve-se implantar medidas de manejo ambiental, eliminando os criadouros com adequação do intra e peridomicílio. A limpeza dos quintais, terrenos e praças públicas, e a destinação adequada desse lixo orgânico, são exemplos a serem colocados em prática na região norte do município, como evidenciado nos resultados descritos anteriormente. O controle social está baseado na conscientização da população para a adoção das medidas citadas minimizando as dificuldades operacionais das atividades, viabilizando o controle. E por último, o controle químico que deve ser utilizado em locais com casos humanos, em situações de emergência. A condição de emergência está relacionada à ação rápida e temporária do inseticida, assim como, evitar resistência ao produto.

A região norte do município não registrou ainda casos humanos de LV, mas outras localidades o fizeram. Assim, a aplicação de inseticida de ação residual, piretróides sintéticos, deve ser realizada, intra e peridomílio, sob responsabilidade do município, após a realização do manejo ambiental e conscientização da população envolvida. Importante salientar que, essa medida é direcionada apenas para o inseto adulto, daí a importância de ser precedida pelo controle ambiental e social.

Além do controle do vetor o médico veterinário deve fazer a busca ativa, através de monitoramentos soroepidemiológicos, além de investigar os casos que são notificados, verificando o destino dado ao animal sempre orientando os

tutores. Desta forma, cabe ao mesmo em casos positivos realizar a eutanásia do reservatório como forma de conter a proliferação da enfermidade, situação recomendada pelo Ministério da Saúde.

Na atenção básica atuando no NASF o profissional desenvolve atividades em equipes multiprofissionais que atuam de forma integrada com as equipes ESF. A presença do médico veterinário no núcleo não é obrigatória, ficando na dependência da necessidade do município e do interesse dos gestores públicos, pois são estes que definem a composição regional das equipes multiprofissionais.

Levando em consideração a leishmaniose e os resultados apresentados anteriormente, o médico veterinário poderia desenvolver projetos de saúde com base na vulnerabilidade dos indivíduos frente aos animais e demais riscos ambientais no território estudado. Esses projetos de saúde, embasados no diagnóstico epidemiológico das três esferas da saúde teriam como objetivo as intervenções no território e na saúde da população envolvida. Essas intervenções deveriam estar voltadas às condições socioambientais relacionadas à proliferação do vetor e aos fatores de risco à saúde.

O Município de Rio Verde/GO possui 13 Unidades Básicas de Saúde e nove ESF. A região estudada disponibiliza um ponto de apoio para atenção básica no Posto de Saúde do Bairro Valdeci Pires, implantado no ano 2000, que atende a todos os bairros do setor norte do município. Vale ressaltar que a região estudada engloba 12 bairros e 1660 famílias assistidas pelo Programa Bolsa Família, sendo assim, o número de famílias é ainda mais elevado. É Um território amplo, possuindo alta densidade populacional, de forma que apenas um posto de apoio é insuficiente para modificar esse cenário. É necessário investimentos na área da saúde e implantação de mais ESFs apoiadas pelo NASF, sendo o médico veterinário necessário, para que possam ser evitados agravos relacionados a LV além de muitas outras enfermidades, ampliando a resolutividade, a abrangência e o alvo das ações.

Nesse estudo pode-se concluir que população não tem conhecimento sobre a LV e a LVC, assim o profissional, independente da área de atuação, deve realizar ações de educação em saúde. A população tem que ser conscientizada sobre as enfermidades, seus mecanismos de transmissão, seus sintomas e suas medidas de prevenção. Ela deve entender o seu papel dentro



da cadeia epidemiológica da enfermidade, sendo essencial o seu apoio, principalmente com relação ao manejo ambiental. A população desconhece a importância desse manejo, como observado no diagnóstico epidemiológico da saúde ambiental. A limpeza periódica dos quintais com a retirada da matéria orgânica em decomposição (folhas, frutos e fezes de animais) e a sua destinação adequada não ficaram evidenciados como atividades rotineiras.

Outro ponto a ser colocado para a população é a criação de animais de produção na área urbana, no caso das aves nos bairros estudados. Esse tipo de criação gera grande produção de matéria orgânica (fezes) e o seu consequente acúmulo, permite a aproximação do vetor no peridomicílio, criando condições bastante favoráveis. Essas atividades devem ser desenvolvidas pelos médicos veterinários, independente da área de atuação profissional, seja o profissional atuante no setor privado ou no setor público.

Ações extensionistas, como foi realizada durante a divulgação da Clínica Itinerante, com o apoio dos estudantes do curso de graduação em Medicina Veterinária da UniRV, devem ser mantidas e estimuladas, não ficando apenas um evento pontual. Atividades, como o teatro de fantoche, despertam o interesse da maioria das crianças. É importante desenvolver o pensamento crítico nas crianças em relação aos direitos e deveres da guarda responsável de animais, controle de natalidade e também informações sobre as diferentes zoonoses, principalmente sobre a leishmaniose, de forma que essas crianças serão agentes de mudanças para os seus pais e familiares. Além disso, o efeito de participação dos estudantes gera efeito multiplicador e de cidadania, base da extensão, na formação do futuro profissional.

O médico veterinário no contexto epidemiológico da LVC deve buscar inserir o tema em discussões entre profissionais e autoridades competentes da área da saúde animal e saúde pública sobre os protocolos diagnósticos e ações de controle e prevenção. Os animais que não apresentam nenhuma manifestação clínica, muitas vezes são tidos como não reagentes, como observado no presente estudo, sendo uma situação inadmissível, pois a não detecção desses reservatórios coloca em risco o sucesso de todo o trabalho realizado anteriormente, expondo a população exposta e disseminando a enfermidade.

Para o correto diagnóstico deve ser levado em consideração o estado clínico do animal aliado ao contexto ambiental (área de ocorrência ou não) relacionando com o exame laboratorial devido a possíveis falhas de sensibilidade de alguns testes, como visto no presente estudo. Um teste de triagem dentro de um programa sanitário deve sempre possuir alta sensibilidade, de modo que todos os verdadeiros positivos sejam identificados, o que será confirmado por um teste com alta especificidade no caso de dúvidas.

Deve-se abrir discussões que questionem as possibilidades da utilização de diversos testes diagnósticos associados, visando mitigar as falhas existentes entre eles. O resultado de um teste, nunca deve ser avaliado isoladamente, pois existe a chance do equívoco, tanto para um resultado não reagente, implicando em graves consequências para a população, quanto para reagente, que nesse caso trata-se da interrupção de uma vida.

A eutanásia deve ser recomendada de forma criteriosa e com a certeza que de realmente o animal está infectado, caso isso não ocorra, o profissional deve lançar mão de diversos métodos diagnósticos para certificar-se daquele resultado, além de associar todas as demais variantes epidemiológicas. Ressaltando que, apenas eliminação do reservatório, sem o controle do vetor torna-se impossível atingir os objetivos do programa.

Desta forma, o conhecimento sobre a presença da LVC na região norte do Município de Rio Verde/GO, assim como a percepção da mesma pela população estudada, será de grande importância para o planejamento e implantação de estratégias de controle. Ficou claro que a união entre diversas profissões junto ao médico veterinário, trabalhando sob a estratégia “Um mundo, uma saúde”, é necessária e fundamental para que haja a promoção da saúde por meio, principalmente, da prevenção.

## 8. REFERÊNCIAS

AGUIAR, P. H. P.; SANTOS, S. O.; PINHEIRO, A. A.; BITTENCOURT, D. V. V.; COSTA, R. L. G.; JULIÃO, F. S.; SANTOS, W. L. C. BARROUIN-MELO, S. M. Quadro clínico de cães infectados naturalmente por *Leishmania chagasi* em uma área endêmica do estado da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde Produção Animal**, v.8, n.4, p.283-294, 2007.

ALBUQUERQUE, A. R.; ARAGÃO, F. R.; FAUSTINO, M. A. G.; GOMES, Y. M.; LIRA, R. A.; NAKASAWA, M.; ALVES, L. C. Aspectos clínicos de cães naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi* na região metropolitana do Recife. **Revista Clínica Veterinária**, n.71, p.78-80, 2007.

ALVAR, J.; CANAVATE, C.; MOLINA, R.; MORENO, J.; NIETO, J. Canine leishmaniasis. **Advances in Parasitology**, v.57, p.1-88, 2004.

ALVES, W. A.; BEVILACQUA, P. D. Reflexões sobre a qualidade do diagnóstico da leishmaniose visceral canina em inquéritos epidemiológicos: o caso da epidemia de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, 1993-1997. **Caderno de Saúde Pública**, v. 20, n. 1, p. 259-265, 2004.

ALVES, L. C.; FAUSTINO, M. A. G. **Leishmaniose Visceral Canina**. São Paulo: Shering-Plough, 2005. 14p.

ASSIS, J.; QUEIROZ, N. M. G. P.; SILVEIRA, R. C. V.; NUNES, C. M.; OLIVEIRA, T. M. F. S.; NORONHA JR, A. C. F.; NEVES, M. F.; MACHADO, R. Z.; BUZETTI, W. A. S. Estudo comparativo dos métodos diagnósticos para Leishmaniose Visceral em cães oriundos de Ilha Solteira, SP. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.19, n.1, p.17-25, 2010.

ASHFORD, R. W. The leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v.30, n.12-13, p.1269-1281, 2000.

BADARÓ, R.; DUARTE, M. I. S. Leishmaniose Visceral (Calazar). In: Veronesi, R.; Focaccia, R. **Tratado de infectologia**. São Paulo: Ateneu, p.1234-1259, 1996.

BALEEIRO, C. O.; PARANHOS-SILVA, M.; DOS SANTOS, J. C.; OLIVEIRA, G. S. G.; NASCIMENTO, G. E.; PONTES-DE-CARVALHO, L.; DOS SANTOS, W. L. C. Montenegro's skin reactions and antibodies against different *Leishmania* species in dogs from a visceral leishmaniasis endemic area. **Veterinary Parasitology**, v.139, p.21-28, 2006.

BANETH, G. Leishmaniasis. In: GREENE, C.E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 3a ed.Canada: Saunders Elsever, 2006, cap.73, p.685-698.

BANETH, G.; AROCH, I. Canine leishmaniasis a diagnostic and clinical challenge. **Veterinary Journal**, v.175, p.14-14, 2008.

BARBIÉRI, C. L. Immunology of canine leishmaniasis. **Parasite Immunology**, v. 28, n.7, p.329-37, 2006.

BARBOSA-DE-DEUS, R.; DOS MARES-GUIA, M.; NUMES, A. Z.; COSTA, K. M.; JUNQUEIRA, R. G.; MAYRINK, W.; GENARO, O.; TAVARES, C. A. *Leishmania major* like antigen for specific and sensitive serodiagnosis of human and canine visceral leishmaniasis. **Clinical Diagnostic Laboratory Immunology**, v.9, n.6, p.1361-1366, 2002.

BELO, V. S.; STRUCHINER, C. J.; WERNECK, G. L.; BARBOSA, D. S.; OLIVEIRA, R. B.; NETO, R. G.; SILVA, E. S. da. A systematic review and meta-analysis of the factors associated with *Leishmania infantum* infection in dogs in Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.195, n.1-2, p.1-13, 2013.

BIO-MANGUINHOS. Instituto de Tecnologia em Imunodiagnósticos. IFI- Leishmaniose Visceral Canina. Imunoflorescência. Indireta para diagnóstico da leishmaniose visceral canina. **BIO-MANGUINHOS**, Rio de Janeiro, 2008a.

BIO-MANGUINHOS. Instituto de Tecnologia em Imunodiagnósticos. EIE- Leishmaniose Visceral Canina. Ensaio Imunoenzimático para diagnóstico da leishmaniose visceral canina. **BIO-MANGUINHOS**, Rio de Janeiro, 2008b.

BIO-MANGUINHOS. Instituto de Tecnologia em Imunodiagnósticos. TR DPP® Leishmaniose Visceral Canina. Teste Rápido qualitativo para detecção de anticorpos de cão para *Leishmania*. **BIO-MANGUINHOS**, Rio de Janeiro, 2011.

BOGGIATTO, P. M.; GIBSON-CORLEY, K. N.; METZ, K.; GALLUP, J. M.; HOSTETTER, J. M.; MULLIN, K.; PETERSEN, C. A. Transplacental transmission of *Leishmania infantum* as a means for continued disease incidence in North America, **Plos Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 5, n. 4, p. 1-6, 2011.

BRASIL. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. Departamento de Vigilância Epidemiológica, Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde, Brasília. 120p, 2003.

BRASIL, M. S. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral**. 1ª ed. Brasília: Editora MS, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Subcoordenação de Zoonoses Vetoriais e Raiva. **Nota Técnica n. 48/2011-UVR/CGDT/DEVEP/SVS/MS**. Esclarecimentos sobre o diagnóstico sorológico da leishmaniose visceral canina utilizado na rede pública de saúde. 2011. Disponível em: [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/nt\\_48\\_2011\\_diagnostico\\_lvc\\_19\\_9\\_2011.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/nt_48_2011_diagnostico_lvc_19_9_2011.pdf). Acesso em 06 de janeiro de 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de Vigilância e Controle de Leishmaniose Visceral**. Brasília. 1ª Edição. 5ª Reimpressão. 122 p. 2014.

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. Disponível em: [http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/Produtos%20Veterin%C3%A1rios/NOTA%20TECNICA%20DFIP%2038-14%20LEISHMUNE.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Produtos%20Veterin%C3%A1rios/NOTA%20TECNICA%20DFIP%2038-14%20LEISHMUNE.pdf). Acesso em 18 de janeiro de 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Gabinete do Ministro. **Instrução Normativa Interministerial n. 31, de 9 de julho de 2007**. 2007. Disponível em: [http://www.saude.sp.gov.br/resources/ses/legislacao/2007/julho/informe-eletronico-de-legislacao-em-saude-n-129-12.07.07/legislacaofederal/u\\_in-interm-mapa-ms-gm-31\\_090707.pdf](http://www.saude.sp.gov.br/resources/ses/legislacao/2007/julho/informe-eletronico-de-legislacao-em-saude-n-129-12.07.07/legislacaofederal/u_in-interm-mapa-ms-gm-31_090707.pdf). Acesso em 18 de janeiro de 2016.

PORTAL BRASIL. Ciência e Tecnologia. Laboratório estuda registro na Europa de vacina contra leishmaniose visceral em animais desenvolvida por pesquisadores do INCT. 2014. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br/ciencia-e-tecnologia/2014/06/vacina-brasileira-podera-ser-comercializada-na-europa>. Acesso em 18 de janeiro de 2016.

BRASIL. Câmara dos Deputados. Gabinete do Deputado Federal Mandetta – DEM/MS. Comissão de Seguridade Social e Família. **Projeto de Lei n. 1738, de 2011**. 2011. Disponível em: [http://www.camara.gov.br/proposicoesWeb/prop\\_mostrarintegra;jsessionid=F40F61272C356EC12E7D1F954F0C960D.proposicoesWeb1?codteor=1240864&filenome=Parecer-CSSF-18-03-2014](http://www.camara.gov.br/proposicoesWeb/prop_mostrarintegra;jsessionid=F40F61272C356EC12E7D1F954F0C960D.proposicoesWeb1?codteor=1240864&filenome=Parecer-CSSF-18-03-2014). Acesso em 18 de janeiro de 2016.

CABRERA, G. P.; SILVA, V. O.; COSTA, R. T.; GENARO, O. The fucosemannose ligant-Elisa in the diagnosis and prognoses of canine visceral leishmaniasis in Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 61, p. 296-301, 1999.

CABRERA, M. A.; PAULA, A. A.; CAMACHO, L. A.; MARZOCHI, M. C.; XAVIER, S. C.; DA SILVA, A. V.; JANSEN, A. M. Canine visceral leishmaniasis in Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro, Brazil: Assessment of risk factors. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.45, p.79-83, 2003.

CALADO, A. M. C. Detecção de marcadores de resistência a múltiplas drogas na pele de cães com infecção natural por *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* (CUNHA E CHAGAS, 1937) SHAW, 2002, submetidos a diferentes protocolos de tratamentos. 2014. 77 f. **Tese (Doutorado)** – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (Clínica Médica Veterinária). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP

CARDOSO, L.; SCHALLIG, H. D.; CORDEIRO-DA-SILVA, A.; CABRAL, M.; ALUNDA, J. M.; RODRIGUES, M. Anti-Leishmania humoral and cellular immune responses in naturally infected symptomatic and asymptomatic dogs. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.117, p.35-41, 2007.

CHAGAS, E.; CUNHA, A.M.; FERREIRA, L.C.; DEANE, L.; DEANE, G.; GUIMARÃES, F.N.; PAUMGARTTEN, M.J.; SÁ, B. Leishmaniose visceral americana (relatório dos trabalhos realizados pela comissão encarregada do estudo da leishmaniose visceral americana em 1937). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 33, p.189-229, 1938.

CHATTERJEE, M.; BANETH, G.; MANDAL, C. Diagnostic and prognostic potential of antibodies against oacetylatedsialic acids in canine visceral leishmaniasis in canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 70, p. 55-56, 1999.

CIARAMELLA, P.; CORONA, M. Canine leishmaniasis: therapeutic aspects. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, Yardley, v.25, n. esp., p.307-375, 2003.

COSTA, R. T.; FRANÇA, J. C.; MAYRINK, W.; NASCIMENTO, E.; GENARO, O.; CAMPOS-NETO, A. Standardization of a rapid immunochromatographic test with the recombinant antigens K39 and K26 for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 97, p.678-682, 2003.

COSTA C. H. N. How effective is dog culling in controlling zoonotic visceral leishmaniasis? A critical evaluation of the science, politics and ethics behind this public health policy. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v.44, n.2, p.232-242, 2011.

COURTENAY, O.; QUINNELL, R. J.; GARCEZ, L. M.; SHAW, J. J.; DYE, C. Infectiousness in a Cohort of Brazilian Dogs: why culling fails to control visceral leishmaniasis in areas of high transmission. **The Journal of Infectious Diseases**, n.186, p.1314-20, 2002.

CORTES, S.; VAZ, Y.; NEVES, R.; MAIA, C.; CARDOSO, L.; CAMPINO, L. Risk factors for canine leishmaniasis in an endemic Mediterranean region. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.189, n.2-4, p.189-196, 2012.

COSTA, C. A.; GENARO, O.; LANA, M.; MAGALHÃES, P. A.; DIAS, M.; MICHALICK, S. M.; MELO, M. N.; COSTA, R. T.; MAGALHÃES ROCHA, N. M.; MYRINK, W. Leishmaniose visceral canina: avaliação da metodologia sorológica utilizada em inquéritos epidemiológicos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 24, n. 1, p. 21-25, 1991.

CRMV-PR. **Manual Técnico Leishmanioses Caninas: Leishmaniose Tegumentar Americana e Leishmaniose Visceral**. 1ª Edição. 2015.

CUNHA, A. M.; CHAGAS, E. Estudos sobre o parasito. In: Leishmaniose Visceral Americana, nova entidade mórbida do homem na América do Sul. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.32, n.3, p.329-337, 1937.



DANTAS-TORRES, F.; BRITO, M. E. F.; BRANDÃO-FILHO, S. P. Seroepidemiological survey on canine leishmaniasis among dogs from an urban area of Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.140, p.54-60, 2006.

DANTAS-TORRES, F. The role of dogs as reservoirs of *Leishmania* parasites, with emphasis on *Leishmania (Leishmania) infantum* and *Leishmania (Viannia) braziliensis*. **Veterinary Parasitology**, v.149, n.3-4, p.139-146, 2007.

DANTAS-TORRES, F.; LORUSSO, V.; TESTINI, G.; PAIVA-CAVALCANTI, M. de; FIGUEREDO, L. A.; STANNECK, D.; MENCKE, N.; BRANDÃO-FILHO, S. P.; ALVES, L. C.; OTRANTO, D. Detection of *Leishmania infantum* in *Rhipicephalus sanguineus* ticks from Brazil and Italy. **Parasitology Research**, Berlin, v.106, n.4, p.857-860, 2010.

DEANE, L. M.; DEANE, M. P. Leishmaniose visceral urbana (no cão e no homem) em Sobral Ceará. **O hospital**, v. 47, p. 75-87, 1955.

DIAS, C. A. Estudo das alterações clínico-laboratoriais e histopatológicas renais em cães com leishmaniose visceral naturalmente infectados no Distrito Federal. 2008, 82 f. **Dissertação (Mestrado)** - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília.

DOMINGOS, I. H. Teste rápido TR-DPP® no contexto do diagnóstico sorológico da leishmaniose visceral canina. 2012. 84 f. **Dissertação (Mestrado)** – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

DOURADO, Z. F.; SILVA, H. D.; SILVEIRA-LACERDA, E. P.; GARCÍA-ZAPATA, L. M. T. A. Panorama histórico do diagnóstico laboratorial da leishmaniose visceral até o surgimento dos testes imunocromatográficos (rK39). **Revista de Patologia Tropical**, v.36, n.3, p.205-214, 2007.

FALQUETO, A.; FERREIRA, A.L.; SANTOS, C.B.; PARROZZI, R.; COSTA, M.V.S.; TEVA, A.; CUPOLILLO, E.; CAMPO-NETO, A.; GRIMALDI, G.JR. Cross-sectional and longitudinal epidemiologic surveys of human and canine *Leishmania infantum* visceral infections in an endemic rural area of southeast Brazil (Pancas, Espírito Santo). **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.80, n.4, p.559-565, 2009.

FEITOSA, M.M. Alterações clínicas de animais naturalmente infectados. **Anais...** Primeiro Fórum sobre Leishmaniose Visceral Canina. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista, p 9-14, 2006.

FERREIRA, E. C., LANA, M., CARNEIRO, M., REIS, A. B., PAES, D. V., SILVA, E. S., SCHALLIG, H., GONTIJO, C. M. F. Comparison of serological assays for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis in animals presenting different clinical manifestations. **Veterinary Parasitology**, v. 146, p. 235-241, 2007.

FERREIRA, M. G.; FATTORI, K. R.; SOUZA, F.; LIMA, V. M. Potential role for dog fleas in the cycle of *Leishmania* spp. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.165, n.1-2, p.150-154, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.06.026>>. Acesso em: 11 de janeiro de 2016.

FERRER, L. The pathology of canine leishmaniasis. In: Proceedings of Second International Canine Leishmaniasis Forum. Sevilla, Spain. **Canine Leishmaniasis: moving towards a solution**, Salamanca: Intervet Internacional, p.21-24, 2002.

FERRER, L. Canine leishmaniasis: evaluation of the immunocompromised patient. In: **ANNUAL WORLD CONGRESS OF THE WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY ASSOCIATION**. Granada, Spain, 2002. pp. 27.

FUNED. Fundação Ezequiel Dias. Funed valida teste mais rápido para leishmaniose visceral canina. **FUNED**, Minas Gerais, abr. 2010. Disponível em: <http://www.isaude.net/pt-BR/noticias/6636/geral/funed-valida-teste-mais-rapido-para-leishmaniose-visceral-canina.htm>. Acesso em: 12 de agosto de 2010.

GAMA, M. E. A.; BARBOSA, J. S.; PIRES, B.; CUNHA, A. K. B.; FREITAS, A. R.; RIBEIRO, I. R.; COSTA, J. M. L. Avaliação do nível de conhecimento que populações residentes em áreas endêmicas têm sobre leishmaniose visceral, Estado do Maranhão, Brasil. *Caderno de Saúde Pública*, n.14, p.381-90, 1998.

GARCIA, F.A. I; MARCONDES, M. Métodos de diagnóstico da leishmaniose visceral canina. **Revista clínica veterinária**. n.71, p. 34-42, nov./ dez. 2007.

GRIMALDI, G. JR.; TEVA, A.; FERREIRA, A. L.; SANTOS, C. B.; PINTO, I. S.; AZEVEDO, C. T.; FALQUETO, A. Evaluation of a novel chromatographic immunoassay based on Dual-Path Platform technology (DPP@CVL rapid test) for the serodiagnosis of canine visceral leishmaniasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.106, p.54-59, 2012.

INIESTA, L.; GALLEGU, M.; PORTUS, M. Immunoglobulin G and E responses in various stages of canine leishmaniosis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 103, p. 77-81, 2005.

KANE, M. M., D. M. Mosser. *Leishmania* parasites and their ploys to disrupt macrophage activation. **Curr. Opin. Hematol.**,v. 7, p. 26, 2000.

KONTOS, V. J.; KOUTINAS, A. F. Old world canine leishmaniasis. **Continuing Education Articles**, n.15, p.949-959, 1993.

LAINSON, R.; RANGEL, E. F. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil: a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.100, n.8, p.811-827, 2005.

LAURENTI, M. D. Patologia e patogenia das leishmanioses. 2010. 140 f. **Tese (Livre-Docência)** - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo.

LAURENTI, M. D.; ROSSI, C. N.; MATTA, V. L. da; TOMOKANE, T. Y.; CORBETT, C. E.; SACUNDINO, N. F.; PIMENTA, P. F.; MARCONDES, M. Asymptomatic dogs are highly competent to transmit *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* to the natural vector. **Veterinary Parasitology**, v.196, n.3-4, p.296-300, 2013.

LAVERAN, A.; MESNIL, F. Sur un protozaire nouveau (*Piroplasma donovani* Lav. & Mesn.). Parasite d' une fièvre de l'Ind. **Comptes Rendus Hebdomadaires Des Seances De L'Academie Des Sciences**, Paris, v.137, n. esp., p.957-961, 1903.

LOPEZ, R.; LUCENA, R.; NOVALES, M.; GINEL, P. J.; MARTIN, E.; MOLLEDA, J. M. Circulating immune complexes and renal function in canine leishmaniasis. Zentralblatt für Veterinärmedizin, Reihe B - Series B - **Journal of Veterinary Medicine**, Berlin, v.43, n.8, p.469-474, 1996.

MACHADO, J. G.; MORAES, J. R. C. M.; COSTA, R. T.; NASCIMENTO, E.; MOREIRA, E. C. Comparação dos resultados dos métodos de imunofluorescência indireta e ELISA indireto no diagnóstico sorológico da leishmaniose visceral canina realizada pelos laboratórios de Belo Horizonte, MG, Brasil. **Veterinária e Zootecnia**, v.14, n.1, p.47-51, 2007.

MAIA, C. S.; PIMENTEL, D. S.; SANTANA, M. A.; OLIVEIRA, G. M.; FAUSTINO, M. A. G.; ALVES, L. C. The perception of the risk factors associated with American Visceral Leishmaniasis in Petrolina, Pernambuco, Brazil. **Medicina Veterinária**, v.7, n.4, p.19-25, 2013.

MANNA, L. et al. Comparison of different tissue sampling for PCR-based diagnosis and follow-up of canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, v. 125, n. 3-4, p. 251-262, 2004.

MAURICIO, I. L.; HOWARD, M. K.; STOTHARD, J. R.; MILES, M. A. Genetic diversity in the *Leishmania donovani* complex. **Parasitology**, London, v.119, n.3, p.237-246, 1999.

MAURICIO, I. L.; STOHARD, J. R.; MILES, L. A. The stranger case of *Leishmania chagasi*. **Parasitology today**, Amsterdam, v.16, n.5, p.188-189, 2000.

MARTÍNEZ-MORENO, A., MORENO, T., MARTÍNEZ-MORENO, F. J., ACOSTA, I., HERNÁNDEZ, S. Humoral and cell-mediated immunity in natural and **experimental canine leishmaniasis**. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.48, p.209-220, 1995.

MARTINEZ-SUBIELA, S.; STRAUSS-AYALI, D.; CERÓN, J. J.; BANETH, G. Acute phase protein response in experimental canine leishmaniosis. **Veterinary Parasitology**, v.180, p.197-202, 2011.

MARZOCHI, M. C. A.; MARZOCHI, K. B. F.; CARVALHO, R. W. Visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro. **Parasitology Today**, v.10, n. 1, p. 34-37, 1994.

METTLER, M.; GRIMMM, F.; CAPELLI, G.; CAMP, H.; DEPLAZES, P. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assays, an immunofluorescent-antibody test, and two rapid tests (immunochromatographic-dipstick and get tests) for serological diagnosis of symptomatic and asymptomatic *Leishmania* infections in dog. **Journal Clinical Microbiology**, v.43, n.11, p.5515-5519, 2005.

MICHALIK, E. M.; FORTES DIAS, C. L.; PIMENTA, P. F. P.; SECUNDINO, N. F. C.; DIAS, E. S. Assessment of PCR in the detection of *Leishmania* spp in experimentally infected individual phlebotomine sandflies (Díptera: Psychodidae: Phlebotominae). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 44, n.5, p. 255-259, 2002.

MISSAWA, N. A.; LOROSA, E. S.; DIAS, E. S. Preferência alimentar de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) em área de transmissão de leishmaniose visceral em Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.41, n.4, p.365-368, 2008.

NICOLLE, C. Nouvelles acquisitions sur le Kala-Azar: Cultures inoculations au chien, étiologi. **Comptes Rendus Des Séances De L'Académie Des Sciences, Paris**, v.146, n. esp., p.498-499, 1908.

OLIVEIRA, T. M. F. S.; FURUTA, P. I.; CARVALHO, D.; MACHADO, R. Z. A study of cross-reactivity in serum samples from dogs positive for *Leishmania* sp, *Babesia canis* and *Ehrlichia canis* in enzyme-linked immunosorbent assay and indirect fluorescent antibody test. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.17, n.1, p.7-11, 2008.

OLIVEIRA, C. D. L.; MORAIS, M. H. F.; MACHADO-COELHO, G. L. L. Visceral leishmaniasis in large Brazilian cities: challenges for control. **Caderno de Saúde Pública**, v. 24, n. 12, p. 2953 – 2958, 2008

ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DE SAÚDE-OPAS. **Encuentro sobre vigilancia, prevención y control de leishmaniasis visceral (LV) em el Cono Sur de Sudamérica**, Foz do Iguazú, Brasil, 2009. Disponível em: <[http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_view&gid=16961&Itemid](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=16961&Itemid)>. Acesso em: 11 de janeiro de 2016.

OTRANTO, D.; PARADIES, P.; SASANELLI, M; LEONE, N.; CAPRARIIS, D.; CHIRICO, J.; SPINELLI, R.; CAPELLI, G.; BRANDONISIO, O. Recombinant k39 dipstick immunocromatographic test: new tool for the serodiagnosis of canine leishmaniasis. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.17, p.32-37, 2005.

PATTABHI, S.; WHITTLE, J.; MOHAMATH, R.; EL-SAFI, S.; MOULTON, G.G.; GUDERIAN, J.A.; COLOMBARA, D.; ABDOON, A.O.; MUKHTAR, M.M.; MONDAL, D.; ESFANDIARI, J.; KUMAR, S.; CHUN, P.; REED, S.G.; BHATIA,

A. Design, Development and Evaluation of rK28-Based Point-of-care Tests for Improving Rapid Diagnosis of Visceral Leishmaniasis. **PloS Neglected Tropical Diseases**, v.4, n.9, e822, 2010.

PESSÔA, S. B.; MARTINS, A. V. **Parasitologia Médica**, 11ª edição. Guanabara koogan, Rio de Janeiro, RJ, Brasil; 78-103, 1982.

PIARROUX, R.; AZAIEZ, R.; LOSSI, A. M.; REYNIER, P.; MUSCATELLI, F.; GAMBARELLI, F.; FONTES, M.; DUMON, H.; QUILICI, M. Isolation and characterization of a repetitive DNA sequence from *Leishmania infantum*: development of a visceral leishmaniasis polymerase chain reaction. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.49, n. 3, p.364–369, 1993.

PINELLI, E.; KILLICK-KENDRICK, R.; WAGENAAR, J.; BRNADINA, W.; REAL, G.; RUITENBERG, J. Cellular and humoral immune responses in dogs experimentally and naturally infected with *Leishmania infantum*. **Infection and Immunity**, v.62, n.1, p.229-235, 1994.

PINELLI, E., RUTTEN, P. M. G. V., RUITENBERG, E. J. Cellular immune responses in canine leishmaniasis. In: CANINE LEISHMANIASIS: NA UPDATE. **Proceedings of a Canine Leishmaniasis Forum**, Barcelona, p. 60-64, 1999.

PORROZZI, R.; COSTA, M. V. S.; TEVA, A.; FALQUETO, A.; FERREIRA, A. L.; SANTOS, C. D.; FERNANDES, A. P.; GAZZINELLI, R. T.; CAMPOS-NETO, A.; GRIMALDI, G. JR. Comparative evaluation of Enzyme-Linked Immunosorbent Assays based on crude and recombinant leishmanial antigens for serodiagnosis of symptomatic and asymptomatic *Leishmania infantum* visceral canine. **Clinical and Vaccine Immunology**, v.14, n.5, p.544-548, 2007.

QUEIROZ, N. M. G. P.; ASSIS, J.; OLIVEIRA, T. M. F. S.; MACHADO, R. Z.; NUNES, C. M.; STARKE-BUZETTI, W. A. Diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina pelas técnicas de imunistoquímica e PCR em tecidos

cutâneos em associação com a RIFI e ELISA-teste. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.19, n.1, p.32-38, 2010.

REITHINGER, R.; QUINELL, R. J.; ALEXANDER, B.; DAVIES, C. R. Rapid Detection of *Leishmania infantum* Infection in Dogs: Comparative Study Using an Immunocromatographic Dipstick Test, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, and PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, v.40, p.2352-2356, 2002.

REIS, A. B.; MARTINS-FILHO, O. A.; TEIXEIRA-CARVALHO, A.; GIUNCHETTI, R. C.; CARNEIRO, C. M.; MAYRINK, W.; TAFURI, W.L.; CORRÊA-OLIVEIRA, R. Systemic and compartmentalized immune response in canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v.128, n.1-3, p.87-95, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.vetimm.2008.10.307>>. Acesso em: 11 de janeiro de 2016.

REY, L. **Parasitologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

RIBEIRO, V. M. Leishmaniose visceral canina: aspecto de tratamento e controle. **Revista Clínica Veterinária**, n71, p. 66-76, 2007.

RIBEIRO, V. M.; SILVA, S. M.; MENZ, I.; TABANEZ, P.; NOGUEIRA, F. S.; WERKHAÜSER, M.; FONSECA, A. L. da; DANTAS-TORRES, F. Control of visceral leishmaniasis in Brazil: recommendations from Brasileish. **Parasites & Vectors**, London, v.6, n.1, p.1-2, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/1756-3305-6-8>>. Acesso em: 12 de janeiro de 2016.

RODGERS, M. R.; POPPER, S. J.; WIRTH, D. F. Amplification of kinetoplast DNA as tool in the detection and diagnosis of *Leishmania*. **Experimental Parasitology**, v. 71, n. 3, p. 267-275, 1990.

RODRIGUEZ, V.; CENTENO, M.; ULRICH, M. The Ig G isotypes of specific antibodies in patients with American cutaneous leishmaniasis; relationship to



the cell-mediated immune response. **Parasite Immunology**, v. 18 p. 341–345, 1996.

ROMERO, G. A.; BOELAERT, M. Control of Visceral Leishmaniasis in Latin America – A Systematic Review. **PloS Neglected Tropical Diseases**, v.4, p.584, 2010.

ROSARIO, E. Y.; GENARO, O.; FRANÇA-SILVA, J. C.; DA COSTA, R. T.; MAYRINK, W.; REIS, A. B.; CARNEIRO, M. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay using crude *Leishmania* and recombinant antigens as a diagnostic marker for canine visceral leishmaniasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.100, n. 2, p.197-203, 2005.

SANTA ROSA, I. C. A. OLIVEIRA, I. C. S. Leishmaniose Visceral: breve revisão sobre uma zoonose reemergente. **Clínica Veterinária**; n.11, p.24-28, 1997.

SANTOS, J. M. L.; DANTAS-TORRES, F.; MATTOS, M. R. F.; LINO, F. R. L.; ANDRADE, L. S. S.; SOUZA, R. C. A.; BRITO, F. L. C.; BRITO, M. E. F.; BRANDÃO-FILHO, S. P.; SIMÕES-MATTOS, L. Prevalência de anticorpos antileishmania spp em cães de Garanhuns, Agreste de Pernambuco. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.43, n.1, p.41-45, 2010.

SCHUBACH, E. Y. P. Validação da técnica de imunocromatografia rápida de duplo percurso para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina em amostras de sangue total e soro. 2011, 74 f. **Dissertação (Mestrado)** - Faculdade de Medicina, Pós-Graduação em Medicina Tropical - Área de concentração em epidemiologia e controle das doenças infecciosas e parasitárias, Universidade de Brasília.

SCOTT, D. W.; MILLER, W. H; GRIFFIN, C. E. Viral, rickettsial and protozoal skin diseases. In: **Muller & Kirk's, Small Animal Dermatology**. 6 ed. Philadelphia: Saunders, p.517-542, 2001.

SHAW, J. J. Further thoughts on the use of the name *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* for the aetiological agent of American visceral leishmaniasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.101, n.5, p.577-579, 2006.

SHIMMING, B. C.; PINTO E SILVA, J. R. C. Leishmaniose visceral canina. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Garça, v.x, n.19, 2012.

SILVA, F. S. Patologia e patogênese da leishmaniose visceral canina. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, Chapadinha, v.1, n.1, 20p, 2007.

SILVA, F. L.; OLIVEIRA, R. G.; SILVA, T. M.; XAVIER, M. N.; NASCIMENTO, E. F.; SANTOS, R. L. Venereal transmission of canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 160, n. 1-2, p. 55-59, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.10.079>>. Acesso em: 11 de janeiro de 2016.

SILVA, D. A; PERIÉ, C. F. D; JUNIOR, A. A. V. M.; MADEIRA, M. F; FIGUEIREDO, F. BO. Leishmaniose visceral canina em Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro – Relato de caso. **Revista Clínica Veterinária**, n. 95 p. 65-68, 2011.

SINGH, S.; SIVAKUMAR, R. Recent avances in the diagnosis of leishmaniasis. **Journal Postgraduated Medicine**, v.49, p.55-60, 2003.

SLAPPENDEL R. J. Canine leishmaniasis. A review based on 95 cases in The Netherlands. **Veterinary Quarterly**. v.10, n.1, p.1-16, 1988.

SOLANO-GALLEGO, L.; KOUTINAS, A.; MIRÓ, G.; CARDOSO, L.; PENNISI, M. G.; FERRER, L.; BOURDEAU, P.; OLIVA, G.; BANETH, G. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 165, n. 1-2, p. 1–18, 2009.

SOLANO-GALLEGO, L.; MIRO, G.; KOUTINAS, A.; CARDOSO, L.; PENNISI, M.; FERRER, L.; BOURDEAU, P.; OLIVA, G.; BANETH, G.; The LeishVet Group. LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniasis. **Parasites & Vectors**, London, v. 4, n. 86, p. 1-16, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/1756-3305-4-86>>. Acesso em: 11 de janeiro de 2016.

SONODA, M. C. **Leishmaniose visceral canina: aspectos clínico epidemiológicos de casos atendidos no período de 1997 a 2007, no Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**. Dissertação [Mestrado] Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. Disponível em:<<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10136/tde-12122007-171752/ptbr>. php>. Acesso em 20 de fevereiro de 2014.

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

STRAUSS-AYALI, D.; BANETH, G.; SHOR, S.; OKANO, F.; JAFFE, C. L. Interleukin-12 augments a Th1-type immune response manifested as lymphocyte proliferation and interferon gamma production in *Leishmania infantum*-infected dogs. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v.35, n.1, p.63–73, 2005.

TAVARES, C. A.; FERNANDES, A. P.; MELO, M. N. Molecular diagnosis of leishmaniasis. **Expert Review of Molecular Diagnostics**, London, v.3, n.5, p.657-667, 2003.

VAN EYS, GJJM, Schoone GJ, Kroon NCM, Ebeling SB 1992. Sequence analysis of small subunit ribosomal RNA genes and its use for detection and identification of *Leishmania* parasites. *Mol Biochem Parasitol* 51: 133-142.

XIMENES, M. F. F. M.; SOUZA, M. F.; CASTELLÓN, E. G. Density of sand flies (Diptera: Psychodidae) in domestic and wild animal shelters in an area of

visceral leishmaniasis in the state of Rio Grande do Norte, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, n.94, p.427-432, 1999.

WEIGEL, M. M.; ARMIJOS, R. X.; RACINES, R. J.; ZURITA, C.; IZURIETA, R.; HERRERA, E.; HINOJSA, E. Cutaneous leishmaniasis in subtropical Ecuador: popular perceptions knowledge, and treatment. **Bulletin of the Pan American Health Organization**, v.28, n.2, p.142-155, 1994.

ZANETTE, M. F. **Comparação entre os métodos de ELISA, imunofluorescência indireta e imunocromatografia para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina.** Dissertação [Mestrado] Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Curso de Medicina Veterinária, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP. Araçatuba, 2006.

## 9. APÊNDICES

### APÊNDICE I - Folder de divulgação da Clínica Itinerante



**Clínica Veterinária Itinerante nos bairros**

Traga seu cãozinho para atendimento veterinário gratuito!  
Serão realizadas consultas, tratamentos para algumas doenças, exames laboratoriais e distribuição de ração.

**O evento estará presente nos seguintes locais:**

**Terminal dos Trabalhadores do Bairro Dom Miguel**  
Data: 20 e 21 de abril  
Horário: das 9h às 12h e das 13h às 16h.

**Centro de Esportes e Lazer do Bairro Céu Azul**  
Data: 22, 23 e 24 de abril  
Horário: das 9h às 12h e das 13h às 16h.

**Organização:**

 **FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

 **UniRV**  
Universidade de Rio Verde

**Apoio:**

 **Secretaria de Políticas Estratégicas**  
Iniciativa Governamental  
SEU FUTURO COMEÇA AQUI!

 **CÂMARA**  
Municipal de Rio Verde

APÊNDICE II - Material educativo utilizado para conscientização sobre guarda responsável, controle populacional e LVC

# LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA

## Proteja seu cachorro e sua família

Medidas simples que podem ajudar a se proteger contra o mosquito

Mantenha seu quintal e a casinha de seu cachorro sempre **MUITO LIMPOS**.

Embale muito bem o seu lixo. Não jogue lixo em terrenos baldios

Evite o acúmulo de matéria orgânica em seu quintal, como restos de comida, montes de folhas ou fezes de animais

**VACINE SEU BICHINHO!**  
Faça o exame em seu cão e vacine-o. Essa é, de longe, a medida mais eficaz de prevenção

Instale em sua casa e na casinha ou canil de seu cãozinho, telas com buracos bem pequenos. (o mosquito é **MUITO** pequeno)

Use nele produtos veterinários destinados a repelir o mosquito (coleiras, sprays, shampoos...)

Fique atento à saúde dele e, à menor suspeita leve-o **IMEDIATAMENTE** ao veterinário

Evite expor seu bichinho ao ataque do mosquito, que age principalmente à noitinha e ao amanhecer

APÊNDICE III - Modelo de termo de consentimento livre e esclarecido aplicado aos moradores participantes do projeto

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Você está sendo convidado participar da pesquisa intitulada “**DIAGNÓSTICO DE SITUAÇÃO DA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA NO MUNICÍPIO DE RIO VERDE-GO**” que será realizada durante as clínicas Itinerantes da cidade de Rio Verde-GO. A pesquisa será conduzida sob-responsabilidade do pesquisador Prof<sup>o</sup>Msc. Amanda Carla Acipreste Galvão.

O objetivo geral desta pesquisa é verificar se existem condições favoráveis à presença do flebotomíneo (mosquito palha) nas moradias e se os animais possuem esta doença.

Durante a pesquisa, você passará por três etapas: 1) Responder a um questionário por meio de perguntas que irão se referir à condição ambiental de sua moradia e dos hábitos de seu(s) animal (is) (cão ou gato); 2) Coleta de sangue dos animais para exame sorológico a qual poderá confirmar a enfermidade no animal. Desde já informo o número do protocolo de aprovação do comitê de ética no uso de animais nº024193/14 pela Unesp- Jaboticabal SP.

Todas as etapas aconteceram em ambiente privativa sempre com dois pesquisadores presentes, durante todas as etapas. O senhor(a) poderá ter um acompanhante em todas as fases da pesquisa.

Ressalta-se que você não terá nenhum tipo de despesa ao participar deste estudo e caso queira recusar-se a autorizar e/ou retirar o consentimento, poderá realizá-lo a qualquer momento, sem que sofra penalizações, basta comunicar a pesquisadora ou membro da equipe.

Os riscos da participação de seu animal nesta pesquisa existem, mas são mínimos, podendo haver desconforto mediante o exame clínico e coleta sanguínea. Não se prevê benefícios diretos aos participantes, porém, ao participar de uma pesquisa o participante pode dar sua opinião, falar de assuntos do seu interesse e com isso pode sentir-se importante, além de acolhida satisfação em participar de uma pesquisa.

Os dados obtidos por meio da pesquisa serão mantidos em total sigilo e confidencialidade. O senhor(a) e seu(s) animal(is) não serão identificados e as informações adquiridas ficarão a disposição somente da pesquisadora responsável e da equipe. Este material ficará armazenado por cinco anos, em local seguro, e após esse período o material será incinerado. Os resultados serão publicados em congressos e periódicos especializados, mas com apresentação de dados em grupo não sendo possível em nenhuma hipótese a sua identificação.

Eu professora, Amanda Carla Acipreste Galvão, pesquisadora responsável pela condução desta pesquisa, declaro que cumprirei todas as etapas e procedimentos explicados acima, bem como, todas as garantias apresentadas, para tanto, assino no local identificado e rubrico todas as folhas deste termo

Eu, \_\_\_\_\_, assino no local identificado e rubrico todas as folhas deste termo, concordando com a minha participação na pesquisa: “**DIAGNÓSTICO DE SITUAÇÃO DA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA NO MUNICÍPIO DE RIO VERDE-GO**”. Fui devidamente informado(a) e esclarecido(a) sobre todas as etapas e procedimentos da pesquisa. Fui garantido(a) de que, a qualquer momento, posso retirar meu consentimento, sem que isto nos exponha a qualquer penalidade. Concordo com a possível publicação dos resultados desta pesquisa em congressos e em periódicos especializados.

Rio Verde, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2015.

\_\_\_\_\_  
Ass. do Participante

\_\_\_\_\_  
Ass. do Pesquisador Responsável

**Pesquisador Responsável: Prof<sup>a</sup> MsC. Amanda Carla Acipreste Galvão**

Fazenda Campus Fontes do Saber, Bloco II, Sala NESTAVET.

Setor Universitário, Rio Verde-GO.

Telefone: (64) 3611 2280

APÊNDICE IV - Termo de autorização para avaliação animal assinado pelos proprietários participantes do projeto

### TERMO DE AUTORIZAÇÃO

Declaro, para os devidos fins, que autorizo a equipe do Hospital Veterinário da Universidade de Rio Verde – GO, adotar os procedimentos necessários para os exames e tratamentos clínicos do animal de minha propriedade.

Estou informado de que o Hospital Veterinário, através do Médico Veterinário encarregado do paciente dará o devido esclarecimento sobre o estado do paciente e os procedimentos recomendados para o caso.

Também declaro estar ciente de que os procedimentos médicos podem oferecer algum risco ao paciente.

Declaro ainda, estar ciente de que o atendimento é GRATUITO.

Ficha Número: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_  
Nome do Animal: \_\_\_\_\_ Espécie: \_\_\_\_\_  
Raça: \_\_\_\_\_

#### PROPRIETÁRIO RESPONSÁVEL PELO ANIMAL

Nome Completo: \_\_\_\_\_  
CPF: \_\_\_\_\_  
Endereço: \_\_\_\_\_  
Setor: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_  
Observações:

\_\_\_\_\_  
PROPRIETÁRIO / RESPONSÁVEL



APÊNDICE V - Modelo de questionário ambiental aplicado aos moradores participantes do projeto, preenchido pelos mesmos

DATA: \_\_\_\_/\_\_\_\_/2015.



FICHA Nº

SETOR \_\_\_\_\_

NOME: \_\_\_\_\_

PROFISSÃO: \_\_\_\_\_ NATURALIDADE: \_\_\_\_\_ FONE: \_\_\_\_\_

ENDEREÇO: \_\_\_\_\_

QUANTOS ANIMAIS PARTICIPARAM DO EVENTO? \_\_\_\_\_. CASAO

MAIS DE UM ANIMAL;

QUANTOS CÃES: \_\_\_\_\_ QUANTOS GATOS: \_\_\_\_\_.

#### **DIAGNÓSTICO DE SITUAÇÃO ANIMAL**

1. Quais e quantos animais você possui em casa ? ( )Cão\_\_\_\_ ( )Gato\_\_\_\_ ( )Aves\_\_\_\_ ( )Equinos ( )Suínos\_\_\_\_( )Galinha,pato ganso\_\_\_\_ ( )Periquito, Papagaio e Passarinho\_\_\_\_\_.
2. Como e onde os cães e gatos foram adquiridos? ( )Apareceu na rua ( )Nasceu em casa ( )Compra ( )Ganhou de alguém da cidade. De qual cidade?\_\_\_\_\_.
3. Os cães e gatos são criados em ( ) rua ( ) quintal, ( ) dentro de casa ou em ( ) ambos locais ?
4. Seus animais passeiam na rua ? ( ) Sim ( ) Não. Se sim; ( ) Com guia ( ) Solto com supervisão ( ) Solto sem supervisão.

Se solto sem supervisão, por quanto tempo ? ( ) Curto período ( ) Longo período.

5. Algum de seu(s) animal(s) tem carrapato? ( )Não ( )Não sei ( )Sim  
Se \_\_\_\_\_ sim;  
Qual(s)\_\_\_\_\_.
6. Em algum período os ( )cães, ( )gatos e ( )equinos tem acesso a matas e rios? ( )Sim ( )Não  
( )Não sei.
7. Você tem assistência de algum médico veterinário? ( )Não ( )Sim. Se sim; qual a finalidade?  
( )doença ( )rotina ( )vacinação.
8. MARCAR NÚMEROS – Algum animal seu já ficou doente nos últimos dois anos?  
( )Não ( )Sim Qual(s) animal(s)\_\_\_\_\_.
9. Há animais soltos no seu bairro? ( ) sim ( ) não.  
Quais animais ? ( )Cão ( )Gato ( )Equino ( )Outros\_\_\_\_\_.
10. Em relação à quantidade de cães e gatos soltos?  
( )Poucos ( )Muitos ( )Não sei.

### DIAGNÓSTICO DE SAÚDE ANIMAL E PÚBLICA

11. Você acha que cães podem transmitir alguma doença ao homem?  
( )Não ( )Sim. Qual? Cite duas ?\_\_\_\_\_.
12. Você acha que gatos podem transmitir alguma doença ao homem?  
( )Não ( )Sim. Qual? Cite duas ?\_\_\_\_\_.
13. Como teve conhecimento sobre estas doenças?  
( )Panfleto ( )Televisão ( )Rádio ( )Outdoor ( )Agente de saúde  
( )Vizinho, parentes e amigos ( )Internet ( )Escola
14. Na sua opinião, quais animais podem ser acometidos pela leishmaniose visceral canina.  
Obs: Pode assinalar mais de uma alternativa. ( )Cão ( )Gato ( )Animais silvestre  
( )Humanos ( )Aves ( )Roedores ( )Outros. Quais?  
\_\_\_\_\_.
15. O cão pode transmitir a LVC para as pessoas ? ( )Sim ( )Não ( ) Não sei.

Se \_\_\_\_\_ sim,  
como:\_\_\_\_\_

16. É possível a transmissão da LVC por meio dos mosquitos ( )Sim ( )Não ( )Não sei.

Se sim, você acha que é o mesmo mosquito da dengue? ( )Sim ( )Não ( )Não sei.

17. Leishmaniose no cão tem cura ? ( )Sim ( )Não ( )Não sei.

Você sabe se existe tratamento para o cão? ( )Sim ( )Não.

\*Se sim, faria o tratamento em seu animal? ( )Sim ( )Não ( )Não sei

Você sabe se existe vacina para cães contra Leishmaniose ? ( )Sim ( )Não.

Vacinaria seu cão ? ( )Sim ( )Não ( )Não sei.

18. Saberá dizer quais seriam as principais medidas de controle e prevenção da LVC ? ( )Não ( )Sim.

Se \_\_\_\_\_ sim;  
quais?\_\_\_\_\_.

### **DIAGNÓSTICO DE SITUAÇÃO AMBIENTAL**

19. Existe algum tipo de animal que prejudique o bem estar dos moradores neste bairro ? ( )Sim ( )Não

( )Não sei Ex: mosquito, rato, barato, sapo, gambá, cobra, raposa... Qual ?

\_\_\_\_\_.

20. Você possui conhecimento da presença do mosquito palha, birigui, tatuquira, cangalhinha no seu bairro ?

( )Sim ( )Não ( )Não sei.

21. A rua da sua moradia é asfaltada? ( )Sim ( )Não.

22. Possui rede de esgoto ? ( )Sim ( )Não.

Caso não, Fossa septica ( )Sim ( ) Céu aberto ( )Outros\_\_\_\_\_.

23. Existe a coleta do lixo nas residências do seu bairro feita pelo caminhão da prefeitura ?

( )Sim ( )Não ( )Não sei.

Se sim; de quanto em quanto tempo é feita a coleta do lixo domiciliar ?

( )1x na semana ( )2x na semana ( )3x na semana.

24. Caso a coleta não ocorra regularmente, qual é o destino do lixo nas casas?

( )Queimar ( )Enterrar ( )Jogar no lote baldio ( )Não sei ( )Outros

\_\_\_\_\_.

25. Qual a situação da sua moradia?

( )Própria ( )Alugada ( )Cedida ( )Outros

26. A moradia possui quintal ? ( )Sim ( )Não. Se sim; possui área sem concreto ? ( )Não

( )Sim. Se sim; qual seria o destino dessa área ?

\_\_\_\_\_

27. Possui árvores no quintal ? ( )Sim ( )Não.

Caso sim, é frutífera( ) ou não ( ) ?

28. Caso haja árvores no quintal, de quanto em quanto tempo é retirado às folhas do solo?

( )1 vez a cada 7 dias ( )1 vez a cada 15 dias ( )1 vez a cada 30 dias ( )Não sei.

29. Qual seria o destino desse material (folhas e frutos) ?

( )Queimado ( )Despejado em lote baldio ( )Lixo domiciliar ( )Outros

\_\_\_\_\_

30. Você possui vizinhos que criam animais para consumo próprio? ( )Sim ( )Não.

De qual(is) espécie(s) ? ( )Aves ( )Suínos ( )Outros

\_\_\_\_\_.

31. Quanto tempo você reside nesta moradia?

( )Menos de 1 ano ( )Há 1 ano ( )Há 2 anos ( )Ha mais de 2 anos

Responsável pelo preenchimento:\_\_\_\_\_

APÊNDICE VI - Modelo de questionário sobre estado sanitário dos animais participantes do projeto, preenchido pelos voluntários

DATA: \_\_\_\_/\_\_\_\_/2015.



FICHA Nº

**PREENCHIMENTO CLÍNICA MÉDICA**

**Dados do paciente:**

Nome: \_\_\_\_\_ Espécie: ( )Canina ( )Felina Sexo: ( )M ( )F

Data de nascimento: \_\_\_\_\_ Pelagem: \_\_\_\_\_ Peso: \_\_\_\_\_

Freq. Respiratória: \_\_\_\_\_MPM Freq. Cardíaca: \_\_\_\_\_BPM

Temperatura Corpórea: \_\_\_\_\_°C.

**Ficha Clínica / Anamnese:**

- **Temperamento:** ( )Receptivo-fácil de manipular ( ) Receptivo-difícil de manipular ( )Apático/Quieto ( ) Nervoso/agitado ( )Agressivo.
- **Ingestão de água:** ( )Normal ( )Mais que usual ( )Menos que usual ( )Não ingere água ( ) Não sabe.
- **Tipo de Alimentação:** ( )Ração ( )Comida Caseira ( )Ambos ( )Outros\_\_\_\_\_.
- **Apetite:** ( )Normal ( )Mais que usual ( )Menos que usual ( )Não se alimenta ( )Não sabe.
- **Escore corporal:** ( )Normal ( )Magro ( )Caquético ( )Obeso ( )Muito obeso.
- **Perda de Peso:** ( )Não ( )Sim - **Emagrecimento** gradativo/ prolongado ( ) Acentuado/ rápido.
- **Vômito:** ( )Sim ( )Não ( )Frequente ( )Todos os dias ( )Esporádico.

- **Tipo de vômito:** ( ) Líquido amarelado ( ) Líquido esbranquiçado ( ) Líquido esverdeado ( ) Líquido com alimento digerido ( ) Fétido odor de fezes, escuro e em jato ( ) Presença de pêlos .
- **Urina:** ( ) Amarela ( ) Transparente ( ) Vermelha ( ) Marron ( ) Não sabe.
- **Micção:** ( ) 1-2 vezes ao dia ( ) Mais que 3 vezes ao dia ( ) Não sabe / **Apresenta:** ( ) Poliúria ( ) Oligúria ( ) Goteja urina ( ) Disúria ( ) Anúria ( ) Não sabe.
- **Fezes:** ( ) Duras ( ) Moles/pastosas ( ) Líquidas ( ) Não sabe.
- **Defecação:** ( ) 1 vez ao dia ( ) 2 vezes ao dia ( ) 3 vezes ao dia ou mais. ( ) Não sabe.
- **Hidratação:** ( ) Normal ( ) Leve desidratação ( ) Moderada desidratação ( ) Intensa desidratação.
- **Respiração:** ( ) Normal ( ) Taquipnéia ( ) Dispnéia Inspiratória ( ) Dispnéia Expiratória ( ) Paradoxal ( ) Ofegante/Arquejando.
- **Som Respiratório:** ( ) Normal ( ) Abafado ( ) Crepitante ( ) Subilante ( ) Ausente.
- **Som Cardíaco:** ( ) Normal ( ) Galope ( ) Arritmia ( ) Sopro.
- **Linfonodo:** ( ) Normal ( ) Aumentado - ( ) Todos ( ) Maxilar ( ) Pré-escapular ( ) Inguinal ( ) Poplíteo
- **Hepatomegalia:** ( ) Sim ( ) Não.
- **Esplenomegalia:** ( ) Sim ( ) Não.
- **Ectoparasitas:** ( ) Não apresenta ( ) Pulgas ( ) Carrapatos ( ) Larva de Miíases.
- **Mucosas:** ( ) Normal ( ) Hipocorada ( ) Hiperêmica ( ) Ictérica ( ) Cianótica.
- **Narinas:** ( ) Normais ( ) Secreção Nasal D / E ( ) Ruído Nasal ( ) Deformação.
- **Tamanho das Unhas:** ( ) Normais ( ) Mediano ( ) Acentuadas/Grande ( ) Onicogrífose.
- **Pele/Dermatopatias:** ( ) Normal ( ) Alopecia = ( ) Periocular ( ) Bilateral ( ) Patas ( ) Presença de feridas que não cicatrizam. Local: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_ .
- **Pele:** ( ) Prurido ( ) Abscesso ( ) Nódulo ( ) Dermatite por lambedura ( ) Descamação.
- **Pelô:** ( ) Normal ( ) Quebradiço ( ) Opaco.

- **Abdomem:** ( )Normal ( )Constipado ( )Obstipdo ( )Massa ( )Ascite ( )Retenção Urinária ( )Gestação ( )Outros\_\_\_\_\_
- **Tumor:** ( )Mama ( )Face ( )Outros\_\_\_\_\_
- **Boca:** ( )Normal ( )Periodontite/cálculo dentário ( )Lesão de reabsorção ( )Complexo gengivite-estomatite ( )Carcinoma-epinocelular ( )Fratura Dentária ( )Fratura de mandíbula ( )Fistula oronasal.
- **Região Cervical:** ( )Normal ( )Flexura ventral do pescoço ( )Outros:\_\_\_\_\_.
- **Região Toraco-Lombar:** ( )Normal ( )Dor a palpação ( )dificuldade de locomoção.

**Responsável pelo preenchimento clínico:**

\_\_\_\_\_

**COLETA DE SANGUE:**

- Volume de sangue coletado \_\_\_\_\_mL.

## APÊNDICE VII – Resultados das avaliações sorológicas (ELISA, RIFI e DPP)

Tabela 1 – Resultados das avaliações sorológicas (ELISA, RIFI e DPP) realizados nos soros dos animais participantes da “Clínica itinerante nos bairros” com resultados positivos no ELISA realizado no Laboratório de Imunoparasitologia do Departamento de Patologia Veterinária da FCAV/Unesp/Jaboticabal/SP, Rio Verde/GO, 2015.

CÓDIGO	ELISA1	ELISA 1	RIFI1	DPP1
002B	0.392	+	-	
072A	0.609	+	+	NR
077B	0.422	+	-	
080C	0.399	+	-	
082B	0.406	+	-	
084A	0.302	+	-	
096B	0.334	+	-	
189B	0.317	+	-	
204A	0.330	+	+	*
204B	0.374	+	+	NR
204D	0.334	+	+	NR
211A	0.332	+	-	
214A	0.353	+	-	
214B	0.309	+	+	NR
216A	0.311	+	-	
217A	0.309	+	-	
219B	0.313	+	-	
220C	0.335	+	-	
224A	0.316	+	+	NR
232C	0.427	+	-	
235A	0.316	+	+	NR
240A	0.309	+	-	
241B	0.375	+	-	
245B	0.344	+	+	NR
249A	0.340	+	-	
250D	0.339	+	+	NR
251A	0.309	+	+	NR
254A	0.433	+	+	NR
262A	0.460	+	-	
263B	0.310	+	-	
267B	0.348	+	-	
270B	0.309	+	+	NR
271A	0.353	+	-	
276A	0.311	+	-	
277A	0.345	+	-	
283A	0.334	+	-	
284A	0.313	+	-	
285A	0.328	+	+	NR
285C	0.316	+	-	
286A	0.305	+	-	
288A	0.304	+	+	*
293A	0.331	+	+	NR



293B	0.316	+	-	
300A	0.344	+	-	
309D	0.322	+	-	
317B	0.328	+	+	NR
319A	0.501	+	+	NR
326A	0.326	+	-	
342A	0.344	+	+	NR
343A	0.318	+	-	
346A	0.329	+	-	
350A	0.361	+	+	NR
360A	0.300	+	-	
360B	0.319	+	-	
366B	0.388	+	+	*
<b>TOTAL</b>		<b>55</b>	<b>20</b>	<b>17</b>

\*animal não encontrado

ELISA 1 = exame sorológico realizado no Laboratório de Imunoparasitologia do Departamento de Patologia Veterinária da FCAV/Unesp/Jaboticabal/SP;

RIFI 1 = exame sorológico realizado no Laboratório de Imunoparasitologia do Departamento de Patologia Veterinária da FCAV/Unesp/Jaboticabal/SP;

DPP 1 = exame sorológico realizado no Centro de Controle de Zoonoses do Município de RIO Verde/GO;