

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

**FATORES PREDISPOANTES À OCORRÊNCIA DE
LEPTOSPIROSE E LEISHMANIOSE EM CÃES NO DISTRITO
DE CÓRREGO RICO, JABOTICABAL-SP**

**Murilo Abud Bichuette
Médico Veterinário**

2013

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

**FATORES PREDISPOANTES À OCORRÊNCIA DE
LEPTOSPIROSE E LEISHMANIOSE EM CÃES NO DISTRITO
DE CÓRREGO RICO, JABOTICABAL-SP**

Murilo Abud Bichuette

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Adolorata Aparecida Bianco Carvalho

Coorientador: Prof. Dr. David Luciano Rosalen

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária (Medicina Veterinária Preventiva)

Bichuette, Murilo Abud
B583f Fatores predisponentes à ocorrência de leptospirose e
leishmaniose em cães no Distrito de Córrego Rico, Jaboticabal-SP/
Murilo Abud Bichuette. -- Jaboticabal, 2013
ix, 52 p : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2010
Orientadora: Adolorata Aparecida Bianco Carvalho
Banca examinadora: Karina Paes Bürger, Caris Maroni Nunes
Bibliografia

1. flebótomo, 2. georreferenciamento, 3. posse responsável. 4.
roedor, 5. zoonose. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:614.91:636.7

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



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE JABOTICABAL
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: FATORES PREDISPONENTES À OCORRÊNCIA DE LEPTOSPIROSE E LEISHMANIOSE EM CÃES NO DISTRITO DE CÔRREGO RICO, JABOTICABAL-SP

AUTOR: MURILO ABUD BICHUETTE

ORIENTADORA: Profa. Dra. ADOLORATA APARECIDA BIANCO CARVALHO

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. DAVID LUCIANO ROSALEN

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM MEDICINA VETERINÁRIA, Área: MEDICINA VETERINÁRIA PREVENTIVA, pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. ADOLORATA APARECIDA BIANCO CARVALHO
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Profa. Dra. KARINA PAES BÜRGER
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Profa. Dra. CARIS MARONI NUNES
Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba

Data da realização: 15 de fevereiro de 2013.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

MURILO ABUD BICHUETTE - nasceu em Ribeirão Preto, São Paulo, em 12 de agosto de 1986. Em 2004 concluiu o ensino médio no colégio Einstein em Ribeirão Preto. Em março de 2005 ingressou no Curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista - UNESP, Câmpus de Jaboticabal. Em 2006 ingressou no Programa de Educação Tutorial - PET e no mesmo ano teve aprovado pela FAPESP um projeto de pesquisa em Iniciação Científica. De dezembro de 2007 a março de 2008 realizou intercâmbio em Nevada, Estados Unidos. Em 2009 realizou parte do estágio de graduação em Córdoba, Argentina. Em 8 de janeiro de 2010 recebeu o grau de Médico Veterinário. Em 2010 iniciou o Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva, pelo programa de pós-graduação em Medicina Veterinária da Faculdade de Ciências e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

Dedico

ao meu avô Farid

AGRADECIMENTOS

A Deus.

Aos meus pais, Enio e Ramiza, grandes responsáveis por essa caminhada.

Aos meus irmãos Guilherme e Alexandre, pelo companheirismo em todos os momentos.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, FCAV/UNESP, Jaboticabal.

À Professora Doutora Adolorata Aparecida Bianco Carvalho, pela orientação neste trabalho, compreensão, ensinamentos e paciência desde meu ingresso no Programa de Educação Tutorial em 2006.

Ao Professor Doutor David Luciano Rosalen, pela coorientação.

Ao Professor Doutor Alvimar José da Costa, pelo aprendizado adquirido desde 2006, durante a Iniciação Científica. Não poderia deixar de agradecê-lo pelo otimismo e entusiasmo transmitidos e pela indispensável ajuda e confiança em meu trabalho.

Ao Professor Doutor Gilson Pereira de Oliveira, pelo convívio e ensinamentos.

Ao Professor Doutor Welber Daniel Zanetti Lopes, pela amizade e apoio.

Ao Médico Veterinário Rodrigo Lechugo Valarelli, pelo apoio e confiança, em nome da Zoetis Indústria de Produtos Veterinários. A Médica Veterinária Maria do Carmo Cilento, pelo apoio.

Ao Professor Doutor Raul José Silva Girio pelo auxílio na realização dos exames sorológicos para leptospirose. Agradeço também Nivaldo Aparecido de Assis, Thalita Blankenheim, Glaucenyra Silva, Gian Riccardo Galli e Renata Ferreira dos Santos.

À Professora Doutora Rosângela Zacarias Machado, por ceder espaço em seu laboratório para que fossem realizados os exames sorológicos para leishmaniose. A Márcia Jusi e equipe pelo apoio.

À Ourofino Agronegócio.

A Juliana Olivencia Ramalho Nunes, pelo auxílio nos questionários, colheita de amostras e análise multivariada.

Aos Professores Caris Maroni Nunes, Karina Paes Bürger e Samir Issa Samara pelas correções e participação na banca examinadora de defesa da dissertação.

Ao grupo PET (Programa de Educação Tutorial) e àqueles que auxiliaram nas colheitas das amostras e aplicação dos questionários, em especial Ana Paula Grisólio, Guilherme Sembenelli, João Guilherme Cecchetto, Tatiana Gorenstein, Roberta Cordeiro Gaspar e Profa. Dra. Thaís Rabelo dos Santos.

Ao Coordenador do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Prof. Dr. José Jurandir Fagliari e aos colaboradores da pós-graduação Maria da Consolata Mulotto Nunes-“Nina”, Fernanda Raymundo, Rodrigo Rabelo dos Santos, Diego Henrique Mafra e Gabriela Morello Oliveira.

Aos Médicos Veterinários André Desjardins Antunes, Matheus Henrique Magalhães, Samuel Santos Sousa e Álvaro Paiva e a todos que colaboraram de alguma maneira

SUMÁRIO

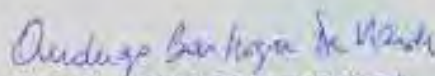
	página
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.1. Cenário da pesquisa	18
3.2. Colheita de amostras de sangue	20
3.3. Pesquisa de anticorpos contra <i>Leptospira</i> spp	20
3.4. Pesquisa de anticorpos anti- <i>Leishmania chagasi</i>	21
3.4.1. Amostras controle-positivo	21
3.4.2. Amostras controle negativo	21
3.4.3. Produção do antígeno de <i>Leishmania chagasi</i>	21
3.4.4. Ensaio Imunoenzimático Indireto (ELISA)	21
3.4.4.1. Preparo do antígeno solúvel.....	22
3.4.4.2. Dose de reatividade ótima de antígeno, soro e conjugado	22
3.4.4.3. Descrição do ELISA	23
3.4.4.4. Tratamento dos dados	23
3.4.5. Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)	24
3.4.5.1. Preparação do antígeno	24
3.4.5.2. Descrição da RIFI.....	25
3.5. Caracterização da população canina.....	25
3.5.1. Aplicação dos questionários.....	25
3.6. Distribuição de material educativo e orientação	26
3.7. Georreferenciament	26
3.8. Organização do banco de dados e análises	27
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
4.1. Análise das amostras para pesquisa de anticorpos contra <i>Leptospira</i> spp pela soroaglutinação microscópica (SAM)	28
4.2. Análise das amostras para pesquisa de anticorpos anti- <i>Leishmania chagasi</i>	31
4.2.1. Ensaio imunoenzimático indireto (ELISA).....	31
4.2.2. Reação de imunofluorescência indireta (RIFI).....	31
4.3. Caracterização da população canina.....	32
4.4. Análise multivariada	35
5. CONCLUSÃO	39
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	40
6. REFERÊNCIAS.....	41
APÊNDICES.....	50

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 012192/12 do trabalho de pesquisa intitulado "Estudo georreferenciado no distrito de Córrego Rico, município de Jaboticabal/SP: Inquérito sorológico para Leishmaniose visceral e leptospirose", sob a responsabilidade do ProP Drª Adelerata Aparecida Bianco Carvalho está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação (COBEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 05 de junho de 2012.

Jaboticabal, 11 de junho de 2012.



Prof. Dr. Andrigo Barboza De Nardi
Coordenador - CEUA

FATORES PREDISPOENTES À OCORRÊNCIA DE LEPTOSPIROSE E LEISHMANIOSE EM CÃES NO DISTRITO DE CÓRREGO RICO, JABOTICABAL-SP

RESUMO - Dentre as zoonoses que têm a participação de cães na sua transmissão, merecem destaque a leptospirose e a leishmaniose visceral, presentes em todas as regiões do Brasil. No Estado de São Paulo a leptospirose é endêmica e a ocorrência de leishmaniose visceral vem apresentando aumento significativo. No Distrito de Córrego Rico, Jaboticabal/SP, é grande o número de cães soltos nas ruas e de roedores que invadem as residências. Há relato, na literatura, de um cão reagente à leishmaniose visceral. Recentemente, em 2011, um jovem veio a óbito por leptospirose. Diante desses fatos, o presente estudo teve como objetivo realizar uma avaliação sorológica das duas enfermidades em cães de Córrego Rico e identificar fatores predisponentes ou relacionados à sua ocorrência. Para tanto, as residências que abrigam cães foram visitadas, aplicou-se um questionário semi-estruturado para levantamento de informações que permitissem avaliar as condições gerais de posse e saúde de cada animal, com entrega de panfleto educativo. Amostras de sangue foram obtidas de 274 cães para serem submetidas à prova de soroaglutinação microscópica (SAM) frente a 24 sorovares de *Leptospira* spp. Vinte e duas amostras mostraram-se reagentes com títulos $\geq 1:100$, sendo os sorovar *butembo*, seguido pelo *autumnalis*, *bratislava* e *pyrogenes* os mais frequentemente encontrados. As mesmas amostras passaram por avaliação de anticorpos contra *Leishmania chagasi*, por meio das técnicas de imunofluorescência indireta (RIFI) e ensaio imunoenzimático indireto (ELISA). Pela imunofluorescência, duas amostras mostraram-se positivas. Já no teste ELISA, todas as amostras testadas foram negativas. A Análise Multivariada permitiu identificar fatores locais que podem estar relacionados com a ocorrência de leptospirose. Embora não tenha sido detectado nenhum soro reagente à leishmaniose e os reagentes à leptospirose tenha sido 8,0%, uma atenção especial deve ser dispensada ao controle da população de cães e à conscientização dos moradores para a posse responsável de animais de estimação e para os cuidados que evitam a proliferação de roedores.

Palavras-chave: flebótomo, georreferenciamento, posse responsável, roedor, zoonose

**PREDISPOSING FACTORS TO THE OCCURRENCE OF LEPTOSPIROSIS AND
LEISHMANIOSIS IN DOGS IN THE DISTRICT OF CÓRREGO RICO,
JABOTICABAL-SP**

ABSTRACT- Among the zoonosis transmitted by dogs in Brasil, leptospirosis and visceral leishmaniosis can be found throughout the country. In São Paulo state, leptospirosis is endemic and the occurrence of visceral leishmaniosis is significantly increasing. In the district of Córrego Rico, Jaboticabal/SP, there is a large number of free roaming dogs and homes that are invaded by rodents, and according to the literature, dogs have also tested positive for leishmaniosis in that region. Recently, in 2011, a fatal human case of leptospirosis was reported. This study was conducted to evaluate the serological response of both diseases in the above mentioned district and to identify predisposing factors that could be related to their occurrence. The households with dogs were visited and a questionnaire was filled to compile the information and evaluate the general conditions of dog health and ownership. An educational folder was also distributed to each participant. Blood samples of 274 dogs were submitted to microscopic serum agglutination (SAM) to 24 serotypes de *Leptospira* spp. Twenty tow samples were positive with titers $\geq 1:100$. The serotypes butembo, followed by autumnalis, bratislava and pyrogenes were the most commonly found. The blood samples were also evaluated against *Leishmania chagasi* antibodies using indirect immunoflourescence (IFI) and ELISA. Two samples were positive based on IFI and all tested negative by the ELISA. The multivariate statistical analysis was able to identified local factors related to the incidence of leptospirosis. There were no findings on positive seroconversion of leishmaniosis and the reagents to leptospirosis were 8,0%. However, this study clearly shows the importance of the population control of dogs and education of dog owners to responsible ownership of pets as well as measures to avoid rodent proliferation.

Keywords: geoprocessing, responsible dog ownership, rodent, sandfly, zoonosis.

1. INTRODUÇÃO

O convívio do ser humano com cães ocorre há milênios e se mostra como um dos mais intensos e estreitos vínculos entre espécies. Tal fenômeno tem caráter global e possui grande e importante repercussão sobre a saúde das pessoas e dos animais, além de refletir no meio ambiente.

Os animais domésticos, em especial cães e gatos, podem transmitir uma série de enfermidades de caráter zoonótico. Considerando o aumento da concentração de pessoas nos centros urbanos e, conseqüentemente, desses animais, somado à falta de conhecimento e preparo das pessoas sobre o assunto e os cuidados com os animais, é grande o risco de sérios prejuízos ocorrerem à saúde pública.

Dentre as zoonoses transmitidas por cães no Brasil, merecem destaque a leptospirose e a leishmaniose visceral, ambas presentes nas cinco regiões geopolíticas do país. No Estado de São Paulo, a leptospirose é endêmica e a leishmaniose visceral preocupa as autoridades sanitárias devido ao aumento significativo de sua ocorrência nos últimos anos.

Com relação à leptospirose, o cão é apontado como hospedeiro natural do sorovar canicola e, portanto, um transmissor em potencial. No que se refere à leishmaniose visceral, a espécie canina é considerada a principal fonte de infecção na área urbana.

Em muitas regiões a situação epidemiológica das duas enfermidades é pouco estudada ou desconhecida. No Distrito de Córrego Rico, Jaboticabal/SP, até o presente momento não há referência a pesquisas dessa natureza, embora haja relato de leishmaniose canina e leptospirose em paciente humano.

Considerando esses fatos, é de grande importância avaliar a ocorrência de animais sorologicamente reagentes a leptospirose e/ou leishmaniose visceral em Córrego Rico/SP, além de conhecer o perfil da população canina, identificar os fatores de risco aos quais as populações canina e humana estão expostas e, por fim, propor medidas de controle dessas enfermidades, especialmente ações de educação em saúde.

2. REVISÃO DE LITERATURA

As zoonoses, por definição simples, são doenças ou infecções naturalmente transmissíveis entre os animais vertebrados e o ser humano (ACHA; SZYFRES, 2001). Nessa definição, o termo infecções foi introduzido com o objetivo de evidenciar as situações de infecções inaparentes, ou seja, aquelas que são caracterizadas pela presença de um vertebrado como portador que alberga e é capaz de transmitir o agente infeccioso, sem necessariamente apresentar sinais clínicos que indiquem alteração de saúde (doença). Já os termos “naturalmente transmissíveis” excluem as situações nas quais as doenças ou infecções ocorrem em situações experimentais, por exemplo, em indivíduos submetidos à imunossupressão ou outras situações de estresse (VASCONCELLOS, 2009).

Admite-se que as zoonoses ocorram desde os tempos pré-históricos. No entanto, evidenciaram-se cerca de 8000 anos antes de Cristo (a.C.), no período Neolítico, ocasião em que o ser humano iniciou a domesticação de animais, estruturação da agricultura, em que houve a transição do nomadismo para sedentarismo (VASCONCELLOS, 2009).

Na Idade Antiga, os primeiros registros escritos sobre a medicina dos animais figuram nos papiros dos Kahunas (*Papyrus Veterinarius Kahun*) elaborados por volta do ano 1800 a.C., e os códigos babilônicos de Esununna (1900 a.C.) e de Hammurabi (1700 a.C.) que descreveram práticas pertinentes à Medicina Veterinária, estabelecendo inclusive, certas condições ao trabalho veterinário e sua remuneração. O Velho Testamento nos dá uma ampla indicação de que os hebreus, cerca de 1500 a.C., tinham consciência das doenças transmissíveis e conheciam, inclusive, meios para sua prevenção, como pode ser constatado no Levítico (11:8), quando proíbe o consumo de carne suína. Ainda na Idade Antiga, na antiga Grécia, coube a Hipócrates (460-310 a.C.) admitir em seu trabalho intitulado “Ar, Águas, Lugares” a importância de componentes ambientais na ocorrência de doenças. Outro grego, contemporâneo de Hipócrates, Aristóteles (384-322 a.C.), em sua obra *História Animalium*, registrou valiosas observações sobre a ocorrência e tratamento das doenças dos animais, fazendo inclusive, alusão à transmissão da raiva (CÔRTEZ, 1993).

Outro período que merece destaque, historicamente, quanto à ocorrência e expansão das zoonoses, é a Idade Média (século V a XV), em especial a Baixa Idade Média, que compreende os séculos XI a XV na Europa, época marcada por estruturação das cidades medievais e castelos feudais, com aglomeração de pessoas, presença de alimentos e resíduos que favoreciam a multiplicação de animais sinantrópicos, em especial aqueles representados pela família *Muridae*. Essa situação explica a dizimação de cerca de um terço da população europeia entre 1347 e 1350 pela Peste Bubônica (CÔRTEZ, 1993).

Mesmo nos tempos contemporâneos, a maioria das zoonoses ainda está relacionada com intervenções inadequadas no ambiente. A relação entre o ambiente e o padrão de saúde de uma população define um campo de conhecimento referido como “Saúde Ambiental” ou “Saúde e Ambiente”. Segundo a Organização Mundial de Saúde, essa relação incorpora todos os elementos e fatores que potencialmente afetam a saúde, incluindo, desde a exposição de fatores específicos como substâncias químicas, elementos biológicos ou situações que interferem no estado psíquico do indivíduo, até aqueles relacionados com aspectos negativos do desenvolvimento social e econômico dos países (CÂMARA; TAMBELLINI, 2003).

Animais de estimação representam a parcela mais significativa de espécies introduzidas nas relações humanas e mantidas em suas residências (VIEIRA *et al.*, 2006). Cães e gatos geralmente são os mais populares, seguidos por outras espécies como pássaros, peixes e roedores (WOOD; GILES-CORTI; BULSARA, 2005).

Leptospirose

A leptospirose é uma zoonose cosmopolita e apresenta-se de forma endêmica no Brasil, com notificação em todas as regiões políticas do país (BRASIL, 2013). A enfermidade foi primeiramente descrita por Larrey (1812) com sintomas de icterícia em tropas militares do exército napoleônico, durante a Campanha do Egito por volta do ano de 1800. Em 1886, Adolf Weil publicou detalhadamente o quadro clínico da doença em quatro pacientes. Durante os 30 anos subsequentes, o nome “Doença de Weil” foi utilizado em todas as partes do mundo para descrever os quadros de febre com icterícia. Inada identificou o agente a partir de amostra

sanguínea de paciente em 1915 (ALSTON; BROWN, 1937) e Hideyo Noguchi foi quem primeiramente isolou o microorganismo em roedores, a partir de inoculação de sangue de paciente humano (NOGUCHI, 1918). No Brasil, acredita-se que a enfermidade tenha chegado com os navios negreiros e os primeiros achados confundem-se com quadros de febre amarela (SANTOS *et al.*, 1979).

Trata-se de uma doença infecciosa febril de início abrupto, cujo espectro pode variar desde um processo inaparente até formas graves. O agente causal pertence à ordem Spirochaetales, família Leptospiraceae, gênero *Leptospira* (NOGUCHI, 1918). As leptospirosas são classificadas em 13 espécies patogênicas, distribuídas em mais de 260 sorovariedades agrupadas em 23 sorogrupos (ADLER; MOCTEZUMA, 2009).

A leptospirose tem grande importância social e econômica por apresentar elevada incidência em humanos em determinadas áreas, alto custo hospitalar e perda de dias de trabalho, como também por sua letalidade, que pode chegar a 40%, nos casos mais graves (BRASIL, 2009). Afeta várias espécies de animais domésticos e silvestres, roedores, particularmente, a ratazana de esgoto (*Rattus norvegicus*), representam o mais importante reservatório de leptospirosas. Assim, a ocorrência da leptospirose está relacionada às precárias condições de infraestrutura sanitária e alta infestação de roedores infectados. As inundações propiciam a disseminação e a persistência do agente causal no ambiente, facilitando a ocorrência de surtos (BRASIL, 2009).

O cão pode ter grande importância na epidemiologia da doença devido à sua estreita associação com o ambiente e com o ser humano (BOLIN, 1996). A infecção humana resulta da exposição direta ou indireta à urina de animais infectados. A penetração do microorganismo ocorre através da pele com presença de lesões, da pele íntegra imersa por longos períodos em água contaminada ou por meio de mucosas. O contato com água e lama contaminadas demonstra a importância do elo hídrico na transmissão da doença ao homem (BRASIL, 2009). Yasuda *et al.* (1980), em São Paulo/SP identificaram inclusive, que na população canina avaliada em seu estudo a infecção leptospirótica sofreu influência sazonal; verão (24,2%) e outono (24,9%) foram as estações do ano com maior número de sorovares reagentes, em oposição à primavera (18,3%) e inverno (18,3%). Tal fato pode estar relacionado às

abundantes chuvas no verão e às temperaturas amenas e elevada umidade do ar no outono, o que favoreceria a manutenção do agente no meio ambiente.

Lopes *et al.* (2005), em área urbana de Botucatu/SP, descreveram que os cães que tiveram contato com roedores, segundo o relato dos proprietários, apresentaram maiores taxas de infecção quando comparadas às dos demais animais sororreagentes. Querino *et al.* (2003) apontaram o hábito de caçar roedores, a presença de áreas alagadiças próximas à residência e o acesso à rua como os fatores de risco associados à leptospirose em cães atendidos no hospital veterinário da Universidade Estadual de Londrina/PR.

Outras modalidades de transmissão possíveis, porém com rara frequência, são: contato com sangue, tecidos e órgãos de animais infectados, transmissão acidental em laboratórios e ingestão de água ou alimentos contaminados. A transmissão entre humanos é muito rara e de pouca relevância epidemiológica, podendo ocorrer pelo contato com urina, sangue, secreções e tecidos de pessoas infectadas (BRASIL, 2009).

As leptospiras podem se alojar nos rins, trato genital e cérebro. Persistem também na câmara ocular anterior, ocasionando uveíte e, casualmente, panoftalmia, principalmente em equinos, possível também em cães e humanos (CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS, 2007).

O sorovar icterohaemorrhagiae provoca a síndrome ictero-hemorrágica (hepatite infecciosa) nos cães acometidos, semelhante à doença de Weil no homem, caracterizada por doença hemorrágica aguda ou falência hepática severa e uremia. Por outro lado, o sorovar canicola caracteriza-se por desencadear um quadro de nefrite intersticial aguda e gastroenterite com maior envolvimento renal, sendo conhecido como enfermidade de Stuttgart ou tifo canino. Ambos os sorovares, canicola e icterohaemorrhagiae, foram associados a quadros de febre, êmese, prostração e anorexia (CACCHIONE *et al.*, 1962 apud JOUGLARD, 2000).

Os sorovares icterohaemorrhagiae, canicola, pomona e autumnalis estão relacionados com a maioria dos casos em humanos (HUTTNER; PEREIRA; TANAKA, 2002). O *Rattus norvegicus* é importante reservatório do sorovar icterohaemorrhagiae, muito comum também em preás (*Cavia aperae azarae*). Cubas *et al.* (2007) encontraram os sorovares pomona, hardjo, grippotyphosa, canicola e

icterohaemorrhagiae como predominantes em bovinos; em suínos, pomona, tarassovi, grippytyphosa, canicola e icterohaemorrhagiae; em eqüinos, pomona, bratislava, pyrogenes, tarassovi, canicola, hardjo e icterohaemorrhagiae; em caprinos os mais comuns foram panama, icterohaemorrhagie, castellonis, shermani, autumnalis e hebdomadis.

De acordo com a tabela 1, estudos realizados no Brasil demonstram que a soroprevalência de aglutininas anti - *Leptospira* spp em cães é bastante variável, bem como os sorovares mais frequentemente encontrados; de modo geral, nessa espécie animal merecem destaque o icterohaemorrhagiae, canicola, copenhageni, pyrogenes, grippytyphosa, pomona e autumnalis.

Tabela 1. Soroprevalência de aglutininas anti *Leptospira* sp em cães de diversas regiões brasileiras¹

Localidade	Referência	N° amostras	Prevalência (%)	Sorovares mais frequentes
São Paulo/ SP	Yasuda, Santa Rosa e Yanaguita, (1980)	1428	21,6	canicola icterohaemorrhagiae grippytyphosa
Diversas localidades/ SP	Favero <i>et al.</i> (2002)	879	17,7	copenhageni Icterohaemorrhagiae
Santana do Parnaíba/ SP	Mascolli <i>et al.</i> (2002)	410	14,6	copenhageni canicola hardjo
Jaboticabal/ SP	Brandespin <i>et al.</i> (2005)	992	15,2	canicola icterohaemorrhagiae
Pirassununga/ SP	Martins (2005)	273	14,3	Bratislava australis autumnalis
Botucatu/ SP	Lopes <i>et al.</i> (2005)	1000	15,3	castellonis autumnalis pyrogenes
Botucatu/ SP	Modolo <i>et al.</i> (2006)	775	15,3	canicola pyrogenes autumnalis
Palheiros/ SP	Sarmiento <i>et al.</i> (2007)	90	6,6	canicola icterohaemorrhagiae pyrogenes
Botucatu/ SP	Silva <i>et al.</i> (2009)	1000	17,9	Castellonis autumnalis pyrogenes

¹ Elaborada pelo próprio autor: Murilo Abud Bichuette, 2013.

Diversas localidades/ RJ	Lilenbaum, Ribeiro e Rustein (1994)	745	64,1	canicola andamana icterohaemorrhagiae
Belo Horizonte/ MG	Magalhães <i>et al.</i> (2006)	3417	13,1	canicola ballum pyrogenes
Londrina/ PR	Querino <i>et al.</i> (2003)	160	25,0	pyrogenes icterohaemorrhagiae copenhageni
Curitiba/ PR	Tesserolli <i>et al.</i> (2005)	399	28,5	copenhageni canicola icterohaemorrhagiae
Itapema/ SC	Blazius <i>et al.</i> (2005)	590	10,5	pyrogenes canicola icterohaemorrhagiae
Pelotas/ RS	Furtado <i>et al.</i> (1997)	260	28,9	canicola icterohaemorrhagiae andamana
Pelotas/ RS	Jouglard e Brod. (2000)	489	2,66	icterohaemorrhagiae australis copenhageni
Diversas localidades/ RS	Oliveira e Pires Neto (2004)	754	52,83	copenhageni canicola bratislava
Porto Alegre/ RS	Santin <i>et al.</i> (2006)	86	12,5	icterohaemorrhagiae copenhageni canicola
		89	37,0	copenhageni icterohaemorrhagiae wolfii
Santa Cruz do Sul/ RS	Lobo <i>et al.</i> (2007)	105	71	bratislava autumnalis grippotyphosa
Salvador/ BA	Viegas <i>et al.</i> (2001)	120	85,0	autumnalis canicola icterohaemorrhagiae
Patos/ PB	Batista <i>et al.</i> (2004)	130	20,0	autumnalis pomona grippotyphosa
Campina Grande/ PB	Batista <i>et al.</i> (2005)	285	21,4	autumnalis copenhageni canicola
Aracaju/ SE	Lemos, Melo e Viegas (2010)	100	37	andamana hardjo icterohaemorrhagiae
Monte Negro/ RO	Aguiar <i>et al.</i> (2007)	329	27,3	autumnalis pyrogenes canicola
Oriximiná/ PA	Lilenbaum, Rodrigues e Barboza (2000)	185	18,4	canicola icterohaemorrhagiae copenhageni

Com relação à ocorrência de leptospirose em humanos no Brasil, de 2007 a 2010 foram notificados, em média, 3687 casos ano. Destes, vieram a óbito, em média, 354 pacientes por ano, ou seja, 9,6% dos casos notificados (BRASIL, 2013). Na figura 1, observa-se a distribuição espacial da média dos casos em pacientes humanos registrados entre os anos de 2007 e 2010.

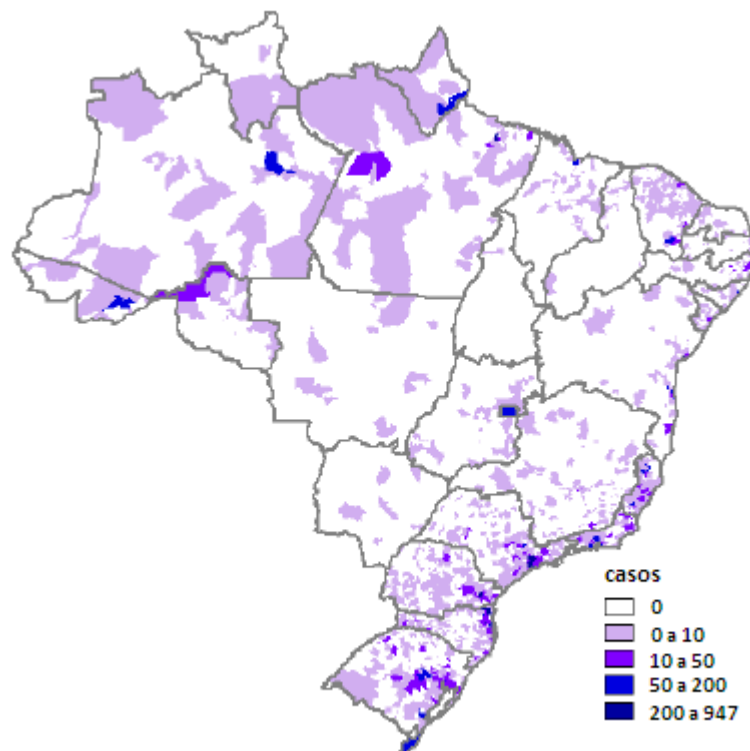


Figura 1. Mapa de estratificação de leptospirose humana no Brasil, segundo município de residência do paciente e média de casos, de 2007 a 2010 (BRASIL, 2013).

Leishmaniose visceral

A leishmaniose visceral no Brasil tem sido apontada como doença reemergente, caracterizando nítido processo de transição epidemiológica, apresentando incidência crescente nas áreas onde ocorria tradicionalmente, assim como expansão geográfica para os estados mais ao sul do país (WERNECK, 2010).

Os primeiros achados do parasito que mais tarde foi denominado *Leishmania* sp datam de 1900 e foram descritos três anos mais tarde pelo cientista escocês Willian Boog Leishman. Na ocasião, o pesquisador observou, a partir de esfregaços sanguíneos do baço de um soldado que veio a óbito em Netley (Inglaterra), após uma expedição próxima a Calcutá (Índia), pequenos corpos em forma de aveia no interior de macrófagos e livres entre as células (LEISHMAN, 1903). Esses relatos motivaram novas buscas que culminaram na elucidação, ou na representação do que se conhece atualmente, da leishmaniose visceral.

Na América do Sul, foi descrito o primeiro caso dessa enfermidade no ano de 1913, em Assunção, Paraguai, após necropsia de paciente oriundo de Boa Esperança, Corumbá/MS (MIGONE, 1913). Posteriormente, Penna (1934), em estudo para o diagnóstico e distribuição da febre amarela, identificou 41 casos positivos de leishmaniose em lâminas de viscerotomias *post-mortem*. Os pacientes eram provenientes das regiões Norte e Nordeste do Brasil.

As leishmanioses têm como agentes etiológicos protozoários intracelulares do gênero *Leishmania*, ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae. A taxonomia das diferentes espécies é complexa (LAINSON; SHAW, 1987; CUPOLLILO *et al.*, 2000) e bastante discutida (SHAW, 2011). As principais espécies envolvidas na infecção no Velho Mundo (Europa, Ásia e África) são a *Leishmania donovani* e *Leishmania infantum*, enquanto no Novo Mundo (Américas) observa-se a *Leishmania chagasi*. Lainson *et al.* (1987), baseados em diferenças ecológicas e epidemiológicas, acreditam que a *L. chagasi* seja realmente uma espécie autóctone da América do Sul, pois em seus estudos encontraram altas taxas de infecção em canídeos originários da Amazônia. Outros pesquisadores consideraram que a *L. chagasi* e *L. infantum* são a mesma espécie por apresentarem características bioquímicas e moleculares muito semelhantes (MAURÍCIO; STOHARD; MILES, 2000).

Esses protozoários são microorganismos heteroxenos, portanto necessitam um vertebrado para completar seu ciclo de vida (como canídeos, roedores ou humanos) e um invertebrado, neste caso, os dípteros da família *Phlebotomidae*. Na América, desde o México até a Argentina, o vetor apontado na transmissão dessa enfermidade é o *Lutzomyia longipalpis* (MIRANDA; DIAS, 2011), embora alguns autores tenham isolado o mesmo agente infeccioso em *Lutzomyia cruzi* no Mato Grosso do Sul, Brasil (SANTOS *et al.*, 1998) e, mais recentemente, em *Lutzomyia migonei*, em Pernambuco, Brasil (CARVALHO; VALENÇA; SILVA, 2010). Na Europa, Ásia e África são incriminados como vetores os insetos do gênero *Phlebotomus* (MIRANDA; DIAS, 2011).

É importante ressaltar que a leishmaniose tegumentar trata-se de outra moléstia, que tem como agentes etiológicos, dentre outros, *Leishmania braziliensis*, *Leishmania amazonensis* e *Leishmania mexicana*, nas Américas, além de *Leishmania major* e *Leishmania tropica*, no Velho mundo (SECUNDINO; FREITAS; PIMENTA, 2011). Inúmeros são as espécies de flebotomíneos identificadas como vetores (MIRANDA; DIAS, 2011).

Dantas-Torres *et al.* (2010) estudaram a relação do carrapato *Rhipicephalus sanguineus* com a epidemiologia da leishmaniose visceral no Estado de Pernambuco. No trabalho, foi extraído e amplificado o DNA de *Leishmania chagasi* por meio da reação em cadeia pela polimerase (PCR), a partir de glândulas salivares de carrapatos que parasitavam cães sabidamente positivos, em região onde não há registro da presença de *L.longipalpis*. Silva *et al.* (2011), no Distrito Federal, relataram isolamento de *Leishmania sp* em cultura NNN modificada, além de resultado positivo pela PCR em glândulas salivares e intestino de *Rhipicephalus sanguineus*. Sabendo-se que este carrapato é trioxeno, ou seja, as larvas, ninfas e adultos necessitam de três hospedeiros (cães) para completar seu ciclo de vida, as informações acima citadas sugerem que este ácaro pode desempenhar um papel importante na epidemiologia da leishmaniose.

O ciclo de vida da *Leishmania sp* consiste em dois diferentes estágios de desenvolvimento: nos vertebrados a *Leishmania* existe como uma amastigota esférica e imóvel, com aproximadamente 2,5 µm a 5 µm de diâmetro e se multiplica no interior dos fagolisossomos presentes nos macrófagos do hospedeiro. Quando o

flebótomo ingere macrófagos contendo amastigotas durante o seu repasto sangüíneo, estas são liberadas no interior de sua glândula salivar, os parasitas diferenciam-se em promastigotas procíclicas flageladas e prendem-se ao epitélio da glândula. Pelo processo de metaciclogênese, dividem-se, adquirem virulência e transformam-se em uma forma infectante metacíclica, a qual se desprende do epitélio da glândula salivar e migra para a faringe e cavidade bucal. Durante o próximo repasto sangüíneo, as promastigotas metacíclicas são passadas para o hospedeiro vertebrado. Estas são incorporadas por fagolisossomos, dentro dos quais se diferenciam em formas amastigotas. Estas se multiplicam, eventualmente rompem os macrófagos infectados, e são liberadas para serem fagocitadas por outros macrófagos, iniciando novo ciclo (CUNNINGHAM, 2002).

A leishmaniose visceral é caracterizada por dois ciclos epidemiológicos: o ciclo silvestre, cujos reservatórios são as raposas (*Dusicyon vetulus* e *Cerdocyon thous*) e marsupiais (*Didelphis albiventris* e *D. marsupialis*), e o ciclo urbano, em que o cão (*Canis familiaris*) é o principal reservatório, provavelmente devido ao seu maior parasitismo cutâneo. No Brasil, esta espécie encontra-se infectada em quase todos os locais de incidência de leishmaniose visceral em humanos (LAINSON, 1983).

As alterações clínicas mais freqüentemente observadas em cães com leishmaniose visceral são a linfadenopatia, alterações dermatológicas, hepato e esplénomegalia, emaciação e onicogribose. Anemia, lesões oculares, hipertemia, emese, diarréia, sinais respiratórios, epistaxe, comprometimento renal e hepático, artrites e alterações neurológicas também podem ser constatados (FEITOSA *et al.*, 2000). Podem estar associados quadros de demodicose, piodermite, hemoparasitos e outras manifestações decorrentes de infecções secundárias à imunossupressão (SLAPPENDEL; FERRER, 1998).

Em alguns cães a doença pode permanecer latente, levando inclusive à cura espontânea. Pozio *et al.* (1981) em estudo na Itália, demonstraram que, após um ano, 52% dos cães assintomáticos apresentavam cura espontânea, com resultado negativo na imunofluorescência. No Brasil, a forma assintomática da doença geralmente representa 40% a 60% de uma população soropositiva; há evidências de que as taxas de prevalência são maiores que as obtidas por estudos sorológicos. A

existência de cães assintomáticos parasitados com ou sem anticorpos tem sido observada em infecções naturais e experimentais (FARREL, 2002).

Entre os seres humanos, o paciente pode apresentar febre irregular de longa duração, sinais de desnutrição proteico-calórica, hepatoesplenomegalia e alterações na pele, que são os principais sintomas da leishmaniose visceral na espécie humana. A evolução é crônica e pode ser fatal, se não diagnosticada e tratada precoce e adequadamente, sendo mais freqüentemente acometidos crianças menores de cinco anos e idosos. A doença pode, ainda, estar associada a severa desnutrição (BADARÓ; DUARTE, 1997).

O método diagnóstico de escolha em cães é a demonstração do parasito por meio do exame direto de amostras de biópsia de linfonodo ou medula óssea (CAMARGO-NEVES *et al.*, 2006). A observação direta de formas amastigotas do parasito em esfregaços de aspirados de linfonodo, medula óssea, fígado, pele e sangue corados com Giemsa, Leishman ou Panótico® é uma forma segura, simples, rápida e pouco traumática para o diagnóstico. A especificidade de tal método é de 100%, mas a sensibilidade depende de fatores como tipo de material coletado, processamento e coloração (LAURENTI, 2009). Em amostras de medula óssea, pesquisadores relatam sensibilidade 50% a 83%, em linfonodos 30% a 85% e, quando combinadas, 71% a 91% (FERRER, 1999; KOUTINAS *et al.*, 2001).

O ensaio imunoenzimático (ELISA) e a reação de imunofluorescência indireta (RIFI), em cães, são os exames mais disponíveis para inquéritos sorológico quando trata-se de saúde pública (CAMARGO-NEVES, 2006).

Assis *et al.* (2010) utilizaram amostras de 34 cães com diferentes sinais clínicos, provenientes de Ilha Solteira/SP, para comparar diversos métodos diagnósticos. Os resultados do estudo apontaram 65% de positividade ao teste ELISA, 62% na imunohistoquímica, 56% na RIFI e 56% na histoquímica. Por meio da reação em cadeia pela polimerase (PCR) a partir de sangue e tecidos (baço, linfonodo e fígado), confirmaram os resultados positivos em 100% dos cães negativos e 89% dos suspeitos, o que levou os autores a concluírem que foi o método mais sensível e preciso. Nunes *et al.* (2007), considerando o diagnóstico por meio da PCR a partir do sangue circulante, observaram que o limite mínimo de detecção do protozoário foi de 0,1 parasito x 0,5mL⁻¹ de sangue, o que é bastante

satisfatório. Por outro lado, com as 166 amostras de cães domiciliados avaliadas, a sensibilidade do teste em amostras de sangue foi de apenas 55% e a especificidade foi de 66,3%, considerando a RIFI como padrão.

Quanto à ocorrência da leishmaniose visceral, estima-se que 14 milhões de pessoas estejam infectadas no mundo e que, a cada ano, ocorram cerca de 500 mil novos casos. Estes números podem estar subestimados, uma vez que essa doença é notificada somente em 33 dos 88 países em que está presente. É considerada endêmica em 65 países, dos quais merecem destaque: Bangladesh, Índia, Nepal, Sudão e Brasil (DESJEUX, 2004). A figura 2 ilustra a distribuição espacial de registros de leishmaniose visceral em seres humanos no ano de 2010.

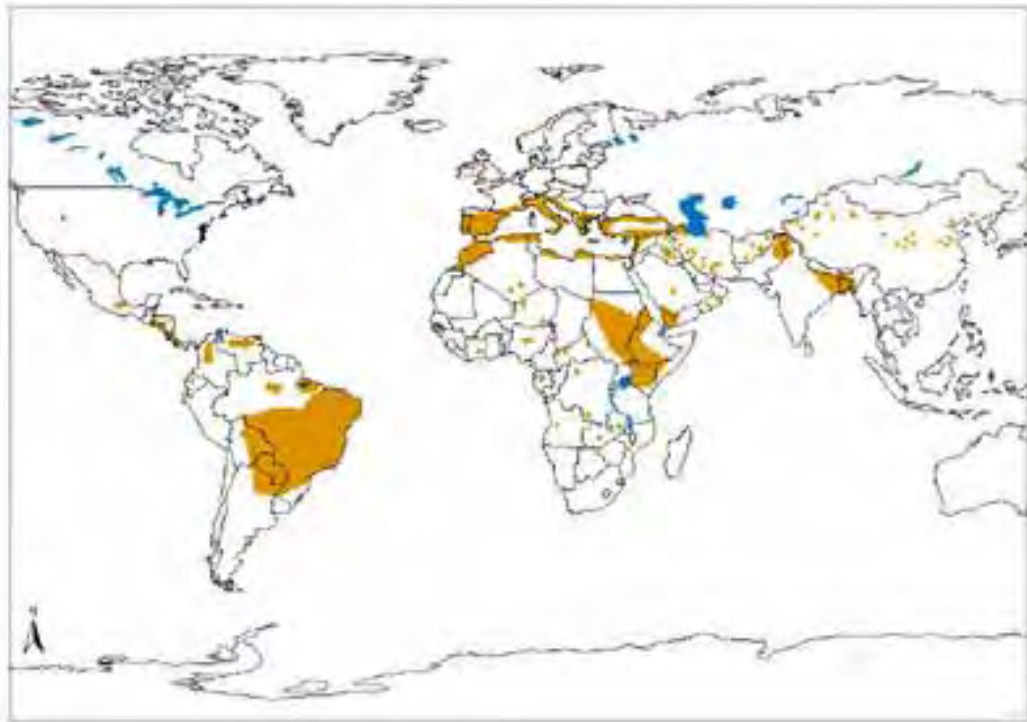


Figura 2. Mapa da distribuição da leishmaniose visceral no mundo, em 2010 (WHO, 2013)

A doença que parecia estar restrita às áreas rurais do Nordeste brasileiro, apresentou mudanças importantes no padrão de transmissão, avançou para outras regiões e alcançou grandes centros urbanos. Já foram registrados casos autóctones em 21 das 27 unidades federativas, nas cinco regiões brasileiras (BRASIL, 2013).

No Brasil, por meio da Portaria da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde SVS/MS Nº. 2.472 de 31 de agosto de 2010, todo caso de leishmaniose visceral é de notificação obrigatória às autoridades locais de saúde,

sendo disciplinada a investigação epidemiológica para definir as medidas de controle.

No ano de 2011 foram notificados 3.894 casos e 262 óbitos por leishmaniose visceral no Brasil, indicando, portanto, uma letalidade de 6,7%. A região Nordeste representou 47,0% dos casos, seguida pelas regiões Norte com 21,4%, Sudeste com 15,2%, Centro-Oeste com 8,4% e, por último, a Sul com 0,05% (BRASIL, 2013).

As áreas de transmissão da leishmaniose visceral são classificadas, a partir da média de casos humanos dos últimos três anos, em: esporádica (<2,4 casos), moderada (>2,4 e <4,4 casos) e intensa (>4,4 casos), e as estratégias de vigilância e controle são diferenciadas conforme o risco epidemiológico. As ações recomendadas são: diagnóstico oportuno e tratamento adequado dos casos humanos, vigilância e monitoramento canino, com eutanásia de cães sororreagentes, vigilância entomológica, manejo ambiental e controle químico do vetor (BRASIL, 2013).

Na figura 3, observa-se a distribuição da enfermidade no Brasil, baseada na média de casos entre os anos de 2009 e 2011 (BRASIL, 2013).

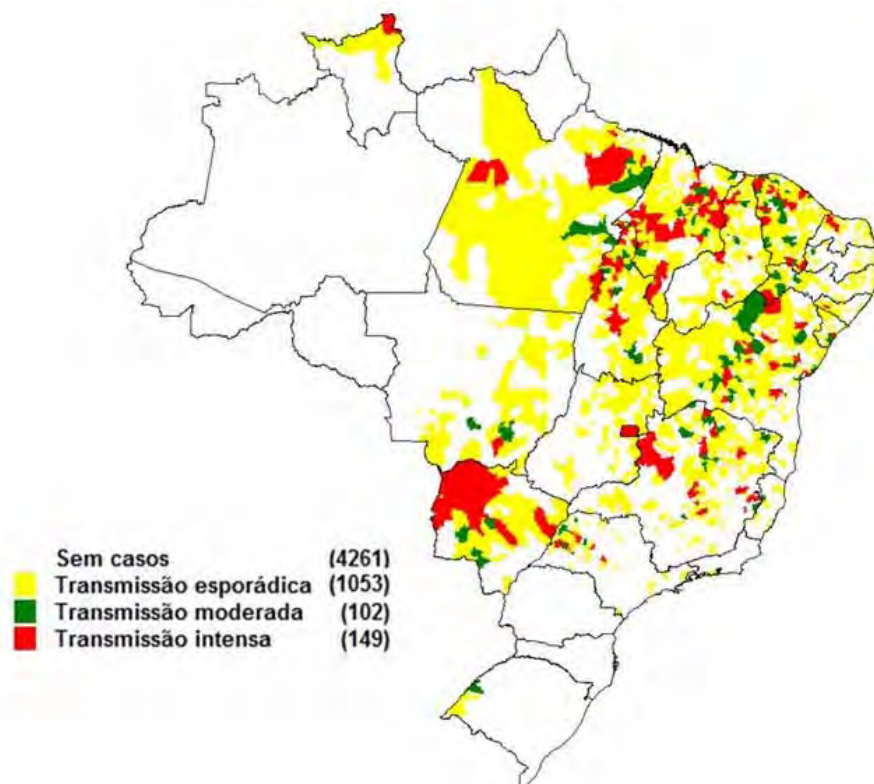


Figura 3. Mapa de estratificação de leishmaniose visceral no Brasil, segundo município de residência do paciente e média de casos, de 2009 a 2011 (BRASIL, 2013).

A região de Araçatuba foi pioneira no Estado de São Paulo quanto ao diagnóstico de casos autóctones (LUVIZOTTO *et al.*, 1999). A transmissão autóctone da doença não havia sido registrada até 1998, apesar de relatos anteriores de leishmaniose visceral em Diadema e São Paulo, sem a identificação, entretanto, dos elos da cadeia de transmissão quanto a vetores e reservatórios (IVERSON *et al.*, 1982).

Na figura 4 pode ser observada a distribuição da leishmaniose visceral nos municípios do Estado de São Paulo, entre os anos de 2008 e 2010, de acordo com a classificação proposta pelo Programa de Vigilância e controle dessa enfermidade (BOULOS *et al.*, 2011). O município silencioso receptivo vulnerável é aquele em que a enfermidade não foi identificada, porém registrou-se a presença do vetor *Lutzomyia longipalpis* e foi selecionado pelos fatores de distância para caracterizar a vulnerabilidade. Os locais silenciosos não receptivos vulneráveis são aqueles não foi detectada a presença da doença e do vetor, mas foi selecionado pelos fatores de distância para caracterizar a vulnerabilidade. As cidades descritas como silenciosas não receptivas não vulneráveis são representadas por aquelas em que não foi registrada a presença da doença, do vetor e não foi selecionada pelos fatores de distância para caracterizar a vulnerabilidade (CAMARGO-NEVES *et al.*, 2006).

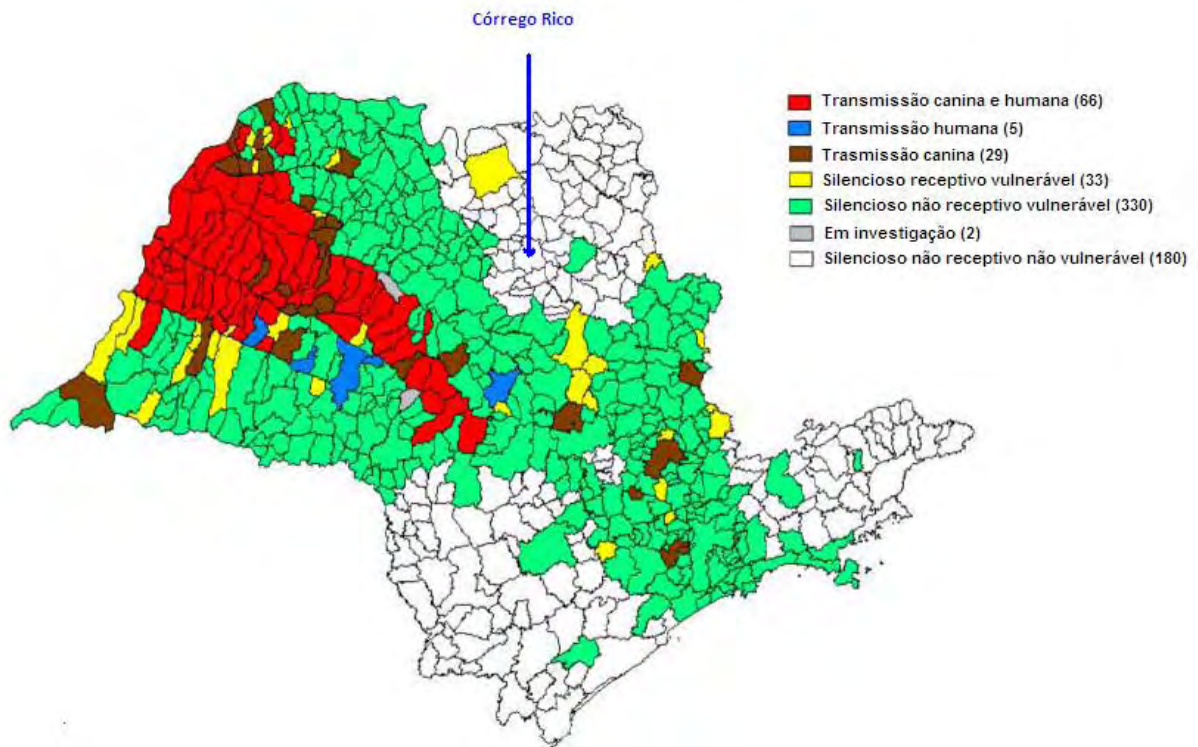


Figura 4. Mapa de estratificação de leishmaniose visceral no Estado de São Paulo, segundo critérios propostos pelo Programa de Vigilância e controle da Leishmaniose Visceral, de 2009 a 2011 (BOULOS *et al.*, 2011).

O Município de Jaboticabal é classificado atualmente como silencioso não receptivo não vulnerável, porém Sakamoto *et al.* (2007) relataram um caso de um cão macho, sem raça definida, adulto, proveniente de Córrego Rico/SP, com manifestações clínicas compatíveis com leishmaniose visceral e reação positiva ao ensaio imunoenzimático (ELISA), empregando como antígeno formas promastigotas de *Leishmania (L.) chagasi*. Pela análise imunohistoquímica de linfonodos e fígado, notou-se imunomarcagem positiva para as formas evolutivas de amastigotas de *Leishmania spp.*

No que concerne ao controle da leishmaniose visceral, o programa coordenado pelo Ministério da Saúde tem como objetivo reduzir as taxas de letalidade, grau de morbidade e risco de transmissão, mediante controle da população de reservatórios e do vetor, e pelo diagnóstico e tratamento precoce dos casos humanos da doença (BRASIL, 2010).

Mariano *et al.* (2011) compararam a situação epidemiológica dos municípios brasileiros, com base nos casos humanos, nos anos de 2004 e 2010. Observaram que, a partir de 2003, com a reformulação do Programa de vigilância e controle da leishmaniose visceral, houve uma redução no número de municípios classificados como de transmissão moderada e intensa, sendo que 26 municípios assim classificados passaram a ser classificados sem transmissão, e 103 passaram a ser de transmissão esporádica. Porém, essas ações parecem não ser suficientes para conter a expansão da doença, uma vez que 110 municípios anteriormente classificados como sem transmissão ou com transmissão esporádica passaram a ser de transmissão moderada ou intensa.

Face à importância das duas zoonoses abordadas, e diante dos fatos expostos, vislumbrou-se a possibilidade de investigar a situação epidemiológica dessas enfermidades no Distrito de Córrego Rico, Município de Jaboticabal/SP, uma vez que havia relato, na literatura, da ocorrência de um caso de leishmaniose em cão, além do grande número de animais soltos nas ruas e de queixas de excesso de roedores. A necessidade desta investigação consolidou-se quando um jovem morador do local veio a óbito no ano de 2011, após apresentar quadro de febre, cefaléia, mialgia e prostração. O diagnóstico foi confirmado pelo exame laboratorial (ELISA) positivo para leptospirose. Tratava-se de um jovem de 14 anos que adotou um cão de rua. Quando a equipe de colheita passou pela casa do jovem ele ainda não havia adquirido o animal e, portanto, a residência foi registrada com ausência de cães. Segundo relato dos familiares, o cão veio à óbito logo após a morte do jovem, por causa não determinada. O relato foi apenas de que o cão tinha grande infestação de carrapatos e ficou apático ao passar dos dias. A Secretaria de Saúde do município reportou que havia relatos da presença de roedores e estoque de grãos na residência. O sorovar de leptospira que acometeu o jovem não foi identificado.

Assim, projetou-se a presente pesquisa com os seguintes objetivos:

Objetivo geral: Avaliar os fatores predisponentes à ocorrência de leptospirose e leishmaniose visceral em cães do Distrito de Córrego Rico, Jaboticabal/SP, e propor medidas de prevenção e controle e educação em saúde.

Objetivos específicos

- realizar pesquisa de anticorpos contra leptospirose canina
- realizar pesquisa de anticorpos contra leishmaniose visceral canina
- caracterizar o perfil da população canina
- avaliar fatores relacionados à presença de anticorpos anti- *Leptospira* sp nos cães

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Cenário da pesquisa

Córrego Rico é um Distrito do Município de Jaboticabal/SP, Brasil. Em 1907 sua população era de 2296 habitantes e, segundo o censo IBGE, em 2010 o número de habitantes era 1414 (IBGE, 2010).

Caracteriza-se por uma área urbana. A zona rural engloba um assentamento. Quase a totalidade de sua área é ocupada pela produção de cana-de-açúcar destinada a duas usinas de açúcar e álcool localizadas próximas ao Distrito e, portanto, grande parte dos trabalhadores está envolvida com essa atividade.

Córrego Rico conta com estrutura básica de uma escola e uma Estratégia de Saúde da Família, mas mantém uma dependência do Município de Jaboticabal. A imagem do Distrito de Córrego Rico/SP encontra-se representada pela Figura 5.

Para a pesquisa, todas as casas foram visitadas.



Figura 5. Imagem do Distrito de Córrego Rico, Município de Jaboticabal/SP, 2013.
Fonte: Google Earth

3.2. Colheita de amostras de sangue

A colheita de sangue foi realizada no maior número de cães possível. As visitas foram realizadas casa a casa por grupos de três pessoas. Enquanto uma delas aplicava o questionário, distribuía o material educativo e realizava as orientações necessárias, outras duas se responsabilizavam pela contenção do animal e colheita de sangue. Os integrantes das equipes revezavam entre si.

Estabeleceu-se a punção da veia cefálica ou jugular, de acordo com o animal e preferência do responsável por aquela colheita. O volume foi de aproximadamente 5mL de sangue, com uso de agulhas e seringas descartáveis.

Após a transferência do sangue para os tubos de vidro, esses foram armazenados em estantes de tubos de ensaio, dentro de caixas de isopor com gelo reciclável.

Posteriormente, as amostras foram levadas para o laboratório de Diagnóstico de Leptospirose do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias UNESP, Câmpus de Jaboticabal, dessoradas e centrifugadas a 700G por cinco minutos.

A seguir, cada amostra foi aliqüotada em três tubos de plástico de 1,5mL, devidamente identificados e mantidos em freezer à temperatura de -20°C, até o momento dos exames de soroaglutinação microscópica (SAM), ensaio imunoenzimático indireto (ELISA) e reação de imunofluorescência indireta (RIFI). O primeiro teste tem como objetivo a detecção de aglutininas anti – *Leptospira* spp, enquanto as duas outras reações buscam a identificação de anticorpos anti – *Leishmania chagasi*.

3.3. Pesquisa de anticorpos contra *Leptospira* spp

As amostras foram analisadas por meio da prova de soroaglutinação microscópica (SAM), com o emprego dos seguintes sorovares como antígenos: andamana, australis, autumnalis, batavie, bratislava, butembo, canicola, castellonis, copenhageni, cynopteri, grippotyphosa, hardjo, hebdomadis, icterohaemorrhagiae, javanica, panama, pomona, patoc, pyrogenes, sentot, shermani, tarassovi, whitcombi e wolfii. Esses 24 antígenos são representados por culturas de leptopiras vivas em meio EMJH, com sete a dez dias de crescimento. A diluição de triagem dos soros é

de 1:50. O critério adotado para considerar-se um soro como reagente é de 50% de aglutinação, ou seja, metade das leptospiros aglutinadas no campo microscópico no aumento de 100 vezes. Os soros reagentes na triagem inicial são reexaminados até sete diluições seriadas de razão dois. O título do soro é considerado como a recíproca da sua maior diluição quando apresentar 50% de aglutinação. Quando um animal apresenta reação cruzada de dois ou mais sorovares, é considerado o sorovar de maior título. A leitura das reações é feita em microscópio de campo escuro após a incubação da mistura soro-antígeno por 50 minutos em temperatura de 28°C. Sua execução segue a metodologia preconizada por Santa Rosa (1970).

3.4. Pesquisa de anticorpos anti-*Leishmania chagasi*

3.4.1. Amostras controle-positivo

As amostras de soro canino positivas para *L.chagasi* pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) foram cedidas pelo Centro de Pesquisas René Rachou/Fiocruz de Belo Horizonte-MG.

3.4.2. Amostras controle negativo

Como controles negativo foram utilizados soros de cães recém nascidos da cidade de Jaboticabal, área não endêmica para a leishmaniose visceral, antes que os mesmos ingerissem colostro.

3.4.3. Produção do antígeno de *Leishmania chagasi*

Para a produção do antígeno, uma cepa de *L.chagasi*, gentilmente cedida pela Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Araçatuba-SP, está sendo mantida em meio de cultura RPMI, acrescido de Hapes, 10% de soro fetal bovino, antimicrobianos, hemina e 2% de urina masculina, mantido à temperatura de 25°C.

3.4.4. Ensaio Imunoenzimático Indireto (ELISA)

O teste ELISA indireto para *L.chagasi* foi realizado de acordo com técnica preconizada por Machado *et al.* (1997) para *B.bovis*, adaptada por Oliveira *et al.* (2008).

3.4.4.1. Preparo do antígeno solúvel

Parte do meio de cultura contendo os parasitos foi centrifugado a 735G, por dez minutos, e o sobrenadante descartado. Posteriormente, foram feitas duas lavagens dos parasitas com meio RPMI incompleto e uma lavagem com tampão de homogeneização (Sacarose 0,25M, EDTA 1mM, Tris-HCl 5mM). Após as lavagens, os parasitas na concentração de 2×10^6 /mL foram ressuspensos em tampão de homogeneização e armazenados a -70°C .

A suspensão de parasitas armazenada foi então submetida a sete ciclos de congelamento a -70°C , seguidos de descongelamento a 37°C . A suspensão resultante foi centrifugada a 3.000G, durante 3 horas a 4°C , e alíquotas de 500 μL do sobrenadante congeladas a -70°C até o momento do uso. O conteúdo protéico do antígeno solúvel foi determinado pelo método ácido bicinônico, utilizando-se o “Kit” de reagentes BCA (BCA Reagents Kit-Pierce Chemical Company), de acordo com as recomendações do fabricante.

3.4.4.2. Dose de reatividade ótima de antígeno, soro e conjugado

As diluições ótimas do antígeno e dos soros controles positivo e negativo foram determinadas, por meio de titulação em bloco, utilizando-se o antígeno nas concentrações de 5 μg , 10 μg , 15 μg e 20 μg /mL, em tampão carbonato-bicarbonato de sódio 0,05M, com pH 9,6, e os soros de referência positivo e negativo nas diluições de 1:100; 1:200; 1:400; 1:800; 1:1600 e 1:3200, em tampão PBS 0,01M, de pH 7,4, contendo 0,05% de Tween 20 (PBS-Tween 20), acrescido de 5% de leite em pó desnatado. O conjugado anti-cão (IgG de coelho anti IgG de cão, acoplada à fosfatase alcalina, SIGMA A-0793) foi diluído 1:4000 em tampão PBS-Tween 20, contendo 5% de soro de coelho.

3.4.4.3. Descrição do ELISA

Foram adicionados 100µL do antígeno solúvel de *L.chagasi*, diluído na concentração ótima de reatividade em tampão carbonato-bicarbonato de sódio 0,05M, pH 9,6, em cada cavidade das microplacas de fundo plano (Nuncclon™ Surface, Nunc. Denmark). 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, 100µL dos soros testes e dos soros de referência positivo e negativo nas suas diluições ideais em PBS-Tween 20, com 5% de leite em pó desnatado. As microplacas foram novamente incubadas e lavadas, como descrito anteriormente; 100µL do conjugado diluído em PBD-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 N-9389) foi adicionado, incubando-se a reação por 45 minutos à temperatura ambiente. Decorrido esse período, a leitura da reação foi realizada em um leitor de microplacas de ELISA (Microplate Reader MRX TC Plus, Dynex Technology), a um comprimento de onda de 405nm.

3.4.4.4. Tratamento dos dados

Os valores de densidade ótica (D.O.) média dos soros foram agrupados em níveis de ELISA, os quais variam de zero a nove. O limite máximo do nível zero foi determinado pela média das D.O. de animais negativos para *L.chagasi*, acrescido de dois desvios padrão. A partir desse limite, os intervalos entre os outros níveis de ELISA foram definidos por acréscimo de 35%, e o ponto de corte do teste de ELISA correspondeu a duas vezes e meia o valor médio das D.O. do soro de referência negativo, conforme preconizado por Machado *et al.* (1997) para o sistema de *B.bovis* e adaptado por Oliveira *et al.* (2008).

A atividade imunológica de cada soro testado foi calculada mediante a determinação do valor A/P (amostra em relação ao positivo), considerando-se os soros de referência negativos e positivos de acordo com a seguinte equação:

$$A/P = \frac{\text{absorbância média da amostra} - \text{absorbância média do soro de referência negativo}}{\text{absorbância média do soro de referência positivo} - \text{absorbância média do soro de referência negativo}}$$

3.4.5. Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)

A RIFI foi realizada conforme a técnica utilizada pelo Centro de Pesquisas René Rachou/FIOCRUZ, de Belo Horizonte-MG, para diagnóstico de animais infectados por *L.chagasi*.

3.4.5.1. Preparação do antígeno

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 3×10^6 a 4×10^6 parasitos por mL.

Utilizando-se lâminas previamente demarcadas com círculos, foram colocados 10µL da suspensão de parasitas em PBS em cada círculo. Após secagem por 6 a 8 horas à 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.

3.4.5.2. Descrição da RIFI

As lâminas preparadas foram retiradas do “freezer” e descongeladas em temperatura ambiente. Em cada círculo contendo o antígeno, foram dispensados 10µL 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 à temperatura ambiente, os círculos das lâminas foram recobertos com 10µL do anticorpo anti-IgG de cão conjugado ao isotiocianato de fluoresceína (KPL cat nº 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 lâminas, 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 10µL 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 $\geq 1:80$.

3.5. Caracterização da população canina

3.5.1. Aplicação dos questionários

Foi elaborado um questionário semi-estruturado que permitiu respostas descritivas e de múltipla escolha (Apêndice A). O proprietário respondia um questionário referente a cada cão do qual era colhida amostra de sangue. As entrevistas eram realizadas face a face.

As informações descritas manualmente nos questionários foram armazenadas no banco de dados Access, versão 97, referentes às seguintes variáveis: nome do proprietário, telefone, endereço, número de residentes na casa, número da amostra, sexo, idade e nome do animal, total de cães na casa, procedência do cão. Foram

registrados ainda os seguintes dados: mobilidade do cão (dentro de casa ou quintal/ passeia com coleira/ “solto curto”, quando o proprietário solta o animal por curto período, e “solto longo”, quando o cão permanece solto por longo espaço de tempo), histórico de vacinação com v8 ou v10 (sim/não), uso de vacinas contra raiva (campanha/ clínica ou casa agropecuária/ não), vermífugos (sim/não), se o cão teve contato com roedores (sim/não) e enxurradas (sim/não). Foi avaliada a presença ou não de carrapatos, sendo classificados de acordo com o número de parasita (zero/ até 10/ 10 a 20/ + de 20). Os proprietários foram questionados quanto à ocorrência de enfermidades no animal no último ano e os mesmos foram avaliados por meio do exame clínico. Os animais foram considerados saudáveis quando registrado nada digno de nota pelo proprietário e exame clínico.

Colaboraram alunos de pós-graduação do Curso de Medicina Veterinária da Unesp/Jaboticabal e graduandos integrantes do Programa de Educação Tutorial da Veterinária de Jaboticabal/ PETVET, totalizando 34 participantes. A atividade foi realizada em seis etapas.

3.6. Distribuição de material educativo e orientação

Após as entrevistas eram distribuídos panfletos educativos (Apêndices B e C). O material abordava temas como posse responsável de animais de estimação e controle de zoonoses (cuidados, controle populacional, vermifugação, e vacinação contra a raiva e outras doenças infecciosas).

3.7. Georreferenciamento

Os pontos amostrais (residências onde foi aplicado um questionário) foram georreferenciados utilizando-se receptor GPD marca Gramin, modelo GPSMAP62, método de posicionamento por pontos simples (PPS). As coordenadas marcadas foram descarregadas do receptor para o sistema Google Earth versão 6.2.2.6613 e, neste, foram geradas as imagens para a representação geográfica da área de estudo.

3.8. Organização do banco de dados e análises

O banco de dados obtido por meio dos questionários foi inserido em uma planilha eletrônica do Microsoft Office Excel® (versão 2003, Redmond, WA), em que as colunas correspondiam às perguntas presentes no questionário e as linhas referiam-se a cada animal.

Como metodologia estatística lançou-se mão da análise multivariada. Um dos grandes desafios na análise de dados categóricos é a extração de informações além das distribuições de frequências e de medidas univariadas que geralmente exigem transformações excessivas nos dados. Os avanços no campo da informática têm possibilitado o uso de novas ferramentas que são capazes de analisar simultaneamente múltiplas medidas, principalmente as categóricas, sobre cada indivíduo ou objeto de investigação (HAIR *et al.*, 2005). Dentre as técnicas de análises multivariadas, destaca-se como recurso que apresenta flexibilidade e facilidade de interpretação na análise multivariada de um conjunto de dados categóricos, a Análise de Correspondência (AC), que pode ser Simples (ACS) ou Múltipla (ACM) (CUNHA JÚNIOR, 2000).

A AC é classificada no conjunto de técnicas associadas a mapas percentuais ou intuitivos. Esses mapas são definidos segundo Hair *et al.* (2005) como “representação visual das percepções que um respondente tem sobre objetos em duas ou mais dimensões. Geralmente esse mapa tem níveis opostos de dimensões nos extremos dos eixos X e Y. Cada objeto então tem uma posição espacial no mapa percentual que reflete a similaridade ou preferência relativa a outros objetos no que se refere às dimensões do mapa percentual”. Esse tipo de análise permite que o pesquisador visualize no mapa as proximidades entre os estímulos propostos.

A variação total dos dados recebe a denominação de inércia, sendo essa variação decomposta em cada eixo (ou dimensão) do gráfico. Assim, a inércia associada a cada dimensão informa qual é a proporção da variação total que aquele eixo está explicando. A primeira dimensão do gráfico percentual (eixo X) exibe a maior quantidade de inércia e, portanto, é o mais relevante.

A Análise de Correspondência Múltipla é uma potente ferramenta de análise que envolve três ou mais variáveis categóricas relacionadas em um espaço percentual comum (HAIR *et al.*, 2005). Por sua facilidade de aplicação, essa foi a

técnica escolhida para a análise exploratória dos dados do presente estudo. Ela representa graficamente no mapa percentual/intuitivo não somente as categorias das variáveis, como também os indivíduos que compõem a amostra. A aplicação da ACM permite que sejam criadas medidas similares, ou seja, proximidades a partir da distância euclidiana entre os indivíduos. Por exemplo, indivíduos com comportamentos similares terão distâncias menores entre si do que indivíduos com comportamentos diferentes (CUNHA JÚNIOR, 2000). Sua matriz de entrada de dados é uma matriz de indivíduos versus critérios.

Para o processamento das análises foi utilizado o software Statistica®, versão 7.0, desenvolvido pela Statsoft Inc.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Análise das amostras para pesquisa de anticorpos contra *Leptospira* spp pela soroglutinação microscópica (SAM)

Estabeleceu-se como critério para as 274 amostras sorológicas analisadas, que um animal é reagente com títulos $\geq 1:100$. Além disso, um animal que apresentasse reação para mais de um sorovar, seria considerado como reagente apenas para o sorovar cuja titulação fosse superior e não foram consideradas as amostras que eram de animais sabidamente vacinados contra a leptospirose.

Registraram-se 22 animais sororreagentes com títulos $\geq 1:100$, sendo o sorovar mais frequente o butembo (5 animais), seguido por autumnalis (4) bratislava (4), pyrogenes (4), canicola (2), australis (1), copenhageni (1), icterohaemorrhagiae (1), e wolffi (1). Um mesmo animal apresentou títulos iguais para o sorovar pyrogenes e canicola e foi considerado reagente para os dois sorovares; portanto, somados os valores acima descritos, apesar de serem 22 cães reagentes, obtêm-se um valor igual a 23. Os números correspondem a uma prevalência de 8,0%.

Em levantamento sorológico com 273 amostras caninas na zona rural de Pirassununga/SP, Martins *et al.* (2005) encontraram 14,3% dos animais reagentes. Os sorovares de maiores incidências foram bratislava, com 54,5%, seguido do australis, autumnalis e pyrogenes, empatados com 9,1%. Os dados corroboram os achados do presente estudo.

Brandespim *et al.* (2005), em estudo georreferenciado em Jaboticabal, encontraram uma prevalência de mais de 15% para os sorovares canicola e icterohaemorrhagiae. Ressalta-se que no trabalho testaram as amostras frente a estes dois antígenos apenas.

Blazius *et al.* (2005), em Itapema/SC, encontraram 26 amostras reagentes para o sorovar pyrogenes de um total de 590 amostras, sendo o sorovar com maior frequência do estudo. No mesmo estudo os pesquisadores encontraram 15 amostras reagentes para o sorovar butembo.

Modolo *et al.* (2006) descreveram 60 amostras reagentes para o sorovar pyrogenes, de um total de 775, no Município de Botucatu/SP.

Considerando-se a importância desta zoonose para a saúde pública e as medidas básicas para o seu controle, o índice de 8,0% pode ser considerado alto e crítico, uma vez que os cães reagentes estão em contato direto e constante com os seus proprietários.

A imagem abaixo (Figura 6) representa a distribuição espacial da enfermidade no Distrito. Os pontos marcados em amarelo representam as casas em que houve colheita de sangue canino, enquanto os pontos verdes indicam as casas em que foram identificados animais reagentes.



Figura 6. Imagem da distribuição espacial da leptospirose canina no Distrito de Córrego Rico, Município de Jaboticabal/SP, 2013.

4.2. Análise das amostras para pesquisa de anticorpos anti-*Leishmania chagasi*

4.2.1. Ensaio imunoenzimático indireto (ELISA)

Todas as 274 amostras foram negativas pelo ensaio imunoenzimático indireto. Tal fato não isenta das autoridades locais a responsabilidade de manter a vigilância epidemiológica na região, haja vista que a enfermidade apresenta-se em rápida expansão pelo Estado de São Paulo, uma vez que o primeiro diagnóstico de caso autóctone em caninos foi em 1998 (LUVIZOTTO *et al.*, 1999) e hoje encontra-se em mais de 100 municípios (BOULOS *et al.*, 2011). O Distrito de Córrego Rico/SP está bastante próximo aos Municípios de São Carlos, Barretos e Cássia dos Coqueiros, classificados como silenciosos receptivos vulneráveis, ou seja, locais onde já existe registro de presença do vetor (BOULOS *et al.*, 2011), e de Araraquara, onde mais recentemente registraram-se dois casos de leishmaniose visceral em cães, um originário de Belo Horizonte/MG e outro, um cão abandonado (Zanella, 2013).

4.2.2. Reação de imunofluorescência indireta (RIFI)

Quando submetidas à imunofluorescência indireta, 4 amostras mostraram-se positivas, com títulos 1:40, 1:160, 1:160 e 1:640. Foram colhidas novamente amostras de dois dos quatro cães e submetidas mais uma vez ao ELISA teste. Ambas mostram-se negativas. Do animal que apresentou título 1:640, foi realizada ainda a punção biopsio-aspirativa do linfonodo poplíteo e corado com panótico®. Não foram encontradas formas amastigotas do parasito neste teste. Pelos resultados obtidos na imunofluorescência, o que poderia explicar as quatro amostras positivas seria a sensibilidade do teste.

A sensibilidade do teste, dependendo do antígeno empregado e das condições da RIFI, pode variar, assim como a especificidade. Zanette (2006), trabalhando com cães parasitologicamente positivos indicou sensibilidade de 98% e especificidade de 91% para a RIFI, utilizando como antígeno promastigotas de *Leishmania chagasi*. A especificidade da prova pode ser prejudicada por reações cruzadas com outras doenças, principalmente aquelas causadas por tripanosomatídeos, como o agente etiológico da doença de Chagas.

No relato de Sakamoto *et al.* (2007), que detectou um cão positivo para leishmaniose visceral no mesmo local desta pesquisa, não constava a origem do animal.

Como as 274 amostras mostraram-se negativas no ELISA teste, todos os cães foram considerados soronegativos para leishmaniose visceral no Distrito de Córrego Rico/SP.

4.3. Caracterização da população canina

Para essa avaliação, foram aplicados questionários somente aos residentes que possuíam cães e dos quais foi colhido sangue. Totalizou-se 240 questionários, um para cada cão. Os questionários com erros (34) foram eliminados.

A pirâmide etária dos cães do Distrito de Córrego Rico/SP (Figura 7) caracteriza-se por uma base larga e um topo estreito. A base larga sugere um elevado número de nascimentos, refletido, provavelmente, pela ausência do controle de natalidade, enquanto o topo estreito indicaria que a expectativa de vida dos animais é baixa. Bentubo *et al.* (2007) estimaram que na região metropolitana de São Paulo a idade média dos cães seria de 36 meses e as principais causas de mortalidade observadas foram, em ordem decrescente de ocorrência, as doenças infecciosas, neoplasias e traumas. Em outros países, como Japão e Suécia, pesquisadores relataram uma idade média de 8,3 anos e 10 anos, respectivamente (HAYASHIDANI *et al.* 1998; BONNETT *et al.*, 1997).

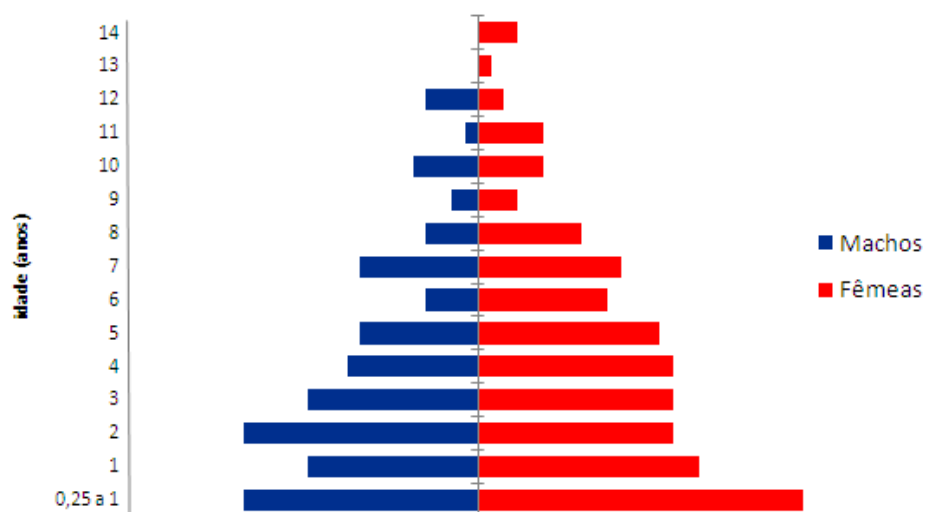


Figura 7. Pirâmide etária dos cães do Distrito de Córrego Rico, Jaboticabal-SP, 2013.

Os resultados obtidos com a aplicação dos questionários estão descritos no Quadro 1.

Quadro 1. Respostas sobre o perfil da população canina obtidas durante entrevista com os proprietários e observação de parasitismo por carrapatos em cães no Distrito de Córrego Rico, Município de Jaboticabal/SP, 2013.

Mobilidade	Casa/quintal	42%
	Com coleira	6%
	Solto curto	34%
	Solto longo	18%
Vacinados com v8 ou v10 nos últimos 12 meses	Sim	10%
	Não	90%
Vacinados contra raiva nos últimos 12 meses	Sim – Campanha	74%
	Sim - Clínica/ agropecuária	6%
	Não	20%
Receberam vermífugos nos últimos 6 meses	Sim	33%
	Não	67%
Relato de contato com roedores	Sim	51%
	Não	49%
Relato de contato com enxurradas	Sim	41%
	Não	59%
Parasitismo por carrapatos observado durante a colheita de sangue	Zero	57%
	Até 10 carrapatos	29%
	10 a 20 carrapatos	8%
	+ de 20 carrapatos	6%

Quanto à mobilidade dos animais, nota-se que somados os cães que permanecem soltos por um período relativamente curto (“solto curto”) aos cães que ficam soltos por longos espaços de tempo (“solto longo”), totalizam 52%, ou seja, mais da metade desses cães de Córrego Rico/SP tem acesso à rua sem a supervisão de seus proprietários.

Com relação à aplicação de vacinas do tipo v8 ou v10 (Cinomose, Adenovírus Tipo 1 e 2, Parainfluenza, Parvovírus, Coronavírus, Leptospiras) nos últimos 12 meses, observa-se que a maioria (90%) dos proprietários não tem o hábito de utilizá-las em seu cães.

Por outro lado, quanto ao uso de vacinas contra a raiva, 80% dos proprietários relataram ter feito o uso em seus cães nos últimos 12 meses. Como representado no Quadro 1, 74% dos animais vacinados são vacinados na campanha municipal, e apenas 6% em clínicas veterinárias ou casas agropecuárias.

Quando questionados à respeito do uso de vermífugos nos últimos seis meses, cerca de dois terços (67%) dos proprietários relataram o não uso em seus cães.

Aproximadamente metade (51%) dos proprietários reponderam que possivelmente seus cães tiveram contato com roedores ou estiveram expostos a situações que favorecem o contato, sendo que 41% dos proprietários disseram que já viram seus cães em contato com águas de enxurradas.

No que se refere ao parasitismo por carrapatos, em pouco mais da metade dos animais (57%) não foi identificado o parasita no momento da colheita de sangue. Ao observar os resultados do perfil da população canina de Córrego Rico/SP expressos nas figuras 5 a 8, nota-se que, de maneira geral, os proprietários dos cães parecem não exercer como deveriam a posse responsável de seus animais. Selby *et al.*, (1979) já afirmavam que falhas na adoção de posturas de posse responsável levam ao abandono, contribuem com o aumento ou com a manutenção do quantitativo de animais nas ruas, além de causarem problemas para a comunidade, seja pelo barulho, acidentes, excrementos ou agravos.

Segundo Reichmann *et al.* (2000), a posse responsável traduz o exercício consciente da cidadania, a educação e os hábitos culturais de uma sociedade. Portanto, posturas de posse responsável de animais redundam em melhores

condições de vida, pois permitem evoluir na preservação de doenças e agravos, bem como na preservação do meio ambiente. Tais posturas envolvem: planejamento na aquisição de um cão, promoção de seu bem-estar físico e mental, fornecimento de cuidados básicos como abrigo, alimentação adequada, higiene, afeto, exercícios, vacinações, vermifugação, tratamento veterinário, realização de controle populacional, restrição da mobilidade, por fim, respeito às suas características e necessidades.

4.4. Análise multivariada

Em complemento aos estudos anteriores, optou-se por avaliar os dados utilizando a Análise de Correspondência Múltipla, com o propósito de explorar a dependência entre as categorias. Nos mapas percentuais a seguir, observa-se a distância entre as variáveis, que pode representar correspondência entre os próximos, e quanto mais distantes da intersecção dos eixos, mais forte é essa correspondência.

De acordo com o mapa representado pela figura 8, nota-se correspondência entre animais soltos e reagentes para a leptospirose. Observa-se, ainda, que animais não reagentes para a leptospirose não tem contato com roedores e ainda são mais saudios. Filhotes parecem sair menos de casa.

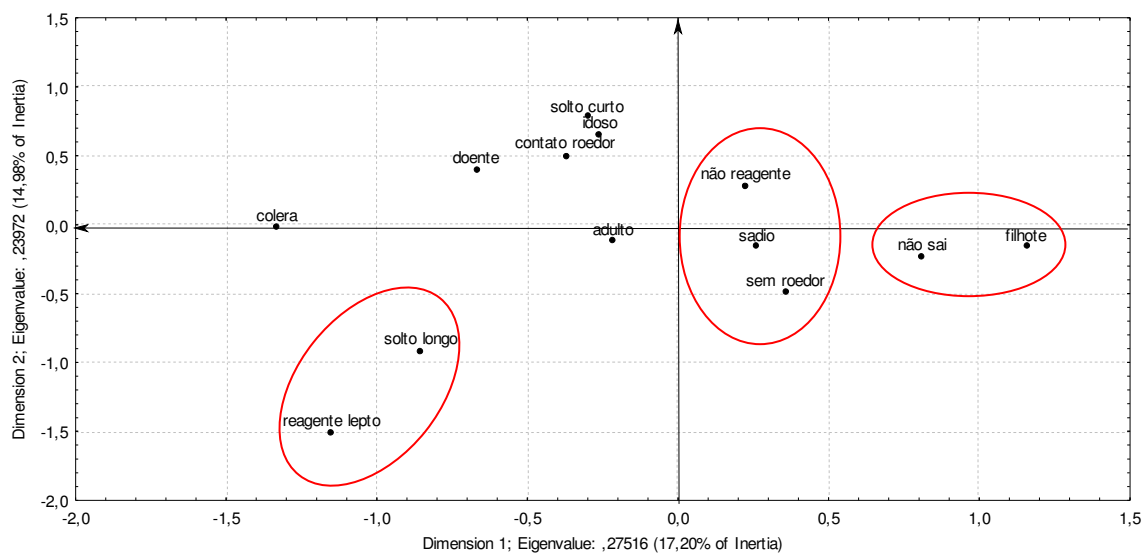


Figura 8. Mapa perceptual referente às variáveis: idade, acesso, contato com roedores, doente e reagente à leptospirose no Distrito de Córrego Rico, Jaboticabal/SP, 2010.

Observa-se que no mapa percentual expresso pela figura 9, as fêmeas parecem permanecer maior tempo dentro da residência e estão bastante próximas a representação dos animais não reagentes à leptospirose.

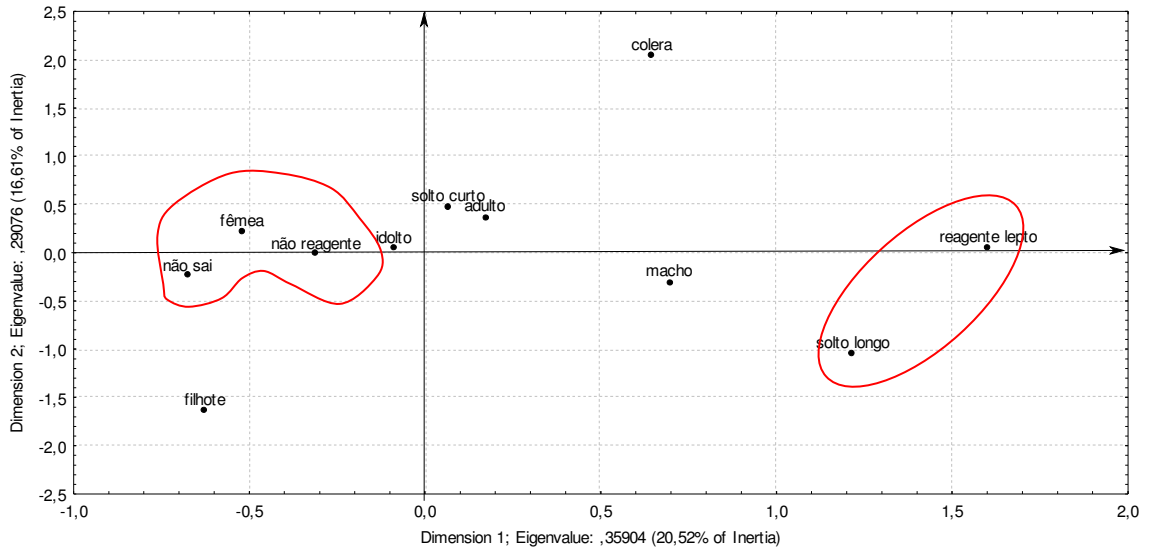


Figura 9. Mapa perceptual referente às variáveis: sexo, idade, acesso e regente à leptospirose no Distrito de Córrego Rico, Jaboticabal/SP, 2010.

O mapa representado pela figura 10 parece confirmar a hipótese de que machos apresentam correspondência com animais soltos e as fêmeas com os animais que não saem de casa.

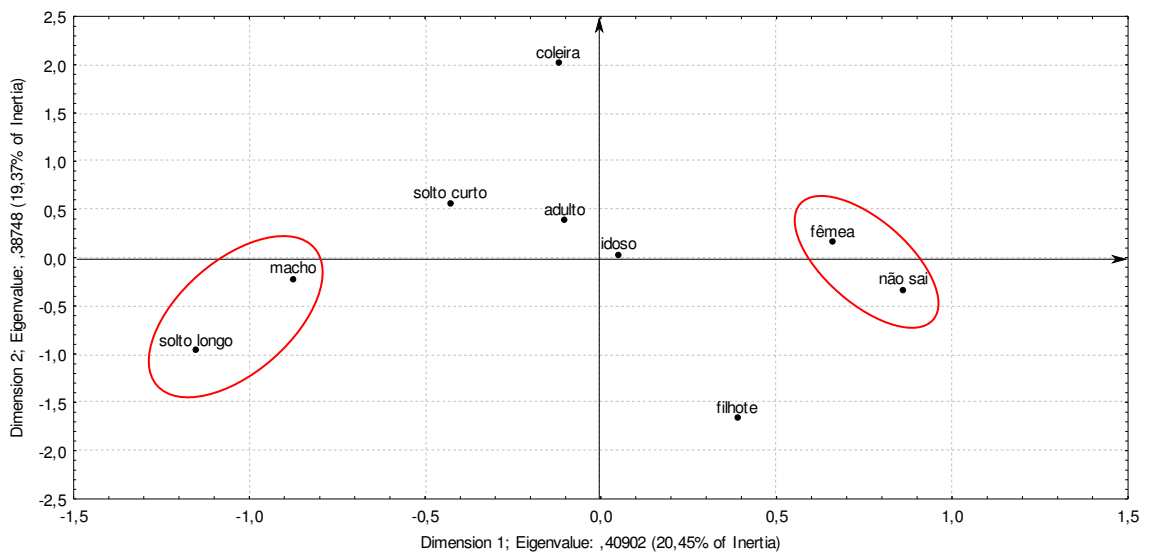


Figura 10. Mapa perceptual referente às variáveis: sexo, idade, acesso no Distrito de Córrego Rico, Jaboticabal/SP, 2010.

Ao observar o mapa perceptual abaixo (Figura 11), nota-se correspondência entre animais que não saem com animais sadios e não parasitados por carrapatos. Por outro lado, parece haver correspondência entre os animais doentes, parasitados por carrapatos e com livre acesso às ruas. Cães que passeiam com coleira podem estar mais parasitados por carrapatos talvez pelos hábitos de seus proprietários em levá-los locais onde há grama durante os passeios a fim de que despresem seus excrementos.

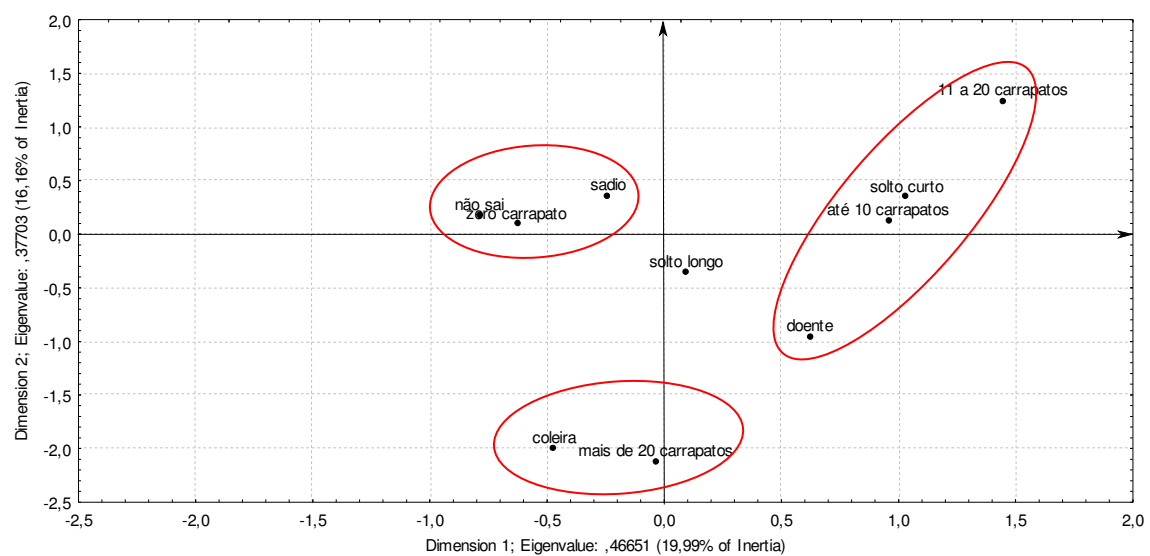


Figura 11. Mapa perceptual referente às variáveis: acesso, carrapatos e doente no Distrito de Córrego Rico, Jaboticabal/SP, 2010.

De acordo com o mapa percentual a seguir (Figura 12), nota-se correspondência entre: animais que não saem de casa, animais não reagentes à leptospirose, animais saudios e animais que não tiveram contato com roedores. Por outro lado, observa-se correspondência entre: animais reagentes à leptospirose, animais que saem de casa, animais doentes e animais que tiveram contato com roedores.

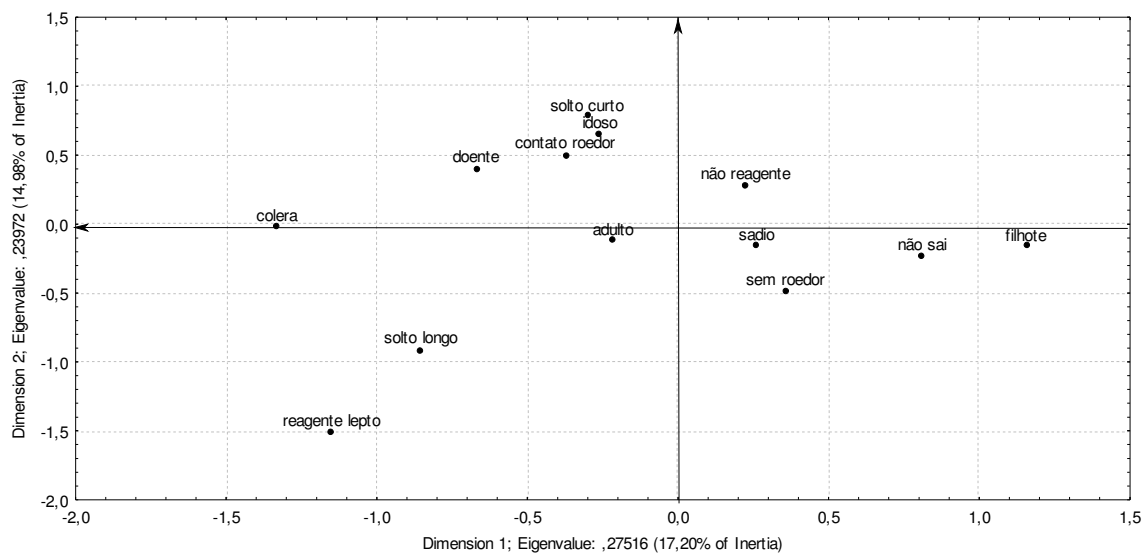


Figura 12. Mapa perceptual referente às variáveis: acesso, doente, reagentes à leptospirose e contato com roedores no Distrito de Córrego Rico, Jaboticabal/SP, 2010.

5. CONCLUSÃO

O trabalho permitiu alcançar os objetivos propostos e fazer análises interessantes com relação à interferência de alguns fatores na ocorrência de doenças. A Análise Multivariada mostrou correspondência entre animais reagentes à leptospirose, animais que saem de casa, animais doentes e animais que tiveram contato com roedores; por outro lado, para ratificar esses resultados, observou-se correspondência entre animais não reagentes à leptospirose, animais que não saem de casa, animais sadios e animais que não tiveram contato com roedores. Ressalta-se, ainda, que a pirâmide etária indicou grande número de nascimentos com poucos animais atingindo idades mais avançadas, fato característico de ausência de cuidados básicos com a saúde dos animais e de controle populacional.

Embora não tenha sido detectado nenhum soro reagente à leishmaniose, os reagentes à leptospirose representaram 8,0%. Os testes indicaram uma predominância do sorovar butembo e o georreferenciamento da localidade permitiu demonstrar que a enfermidade encontra-se distribuída ao longo de todo o distrito. Portanto, uma atenção especial deve ser dispensada ao controle dessa zoonose, bem como ao controle da população de cães e à educação em saúde para conscientização dos moradores quanto a posse responsável de animais.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Propostas de medidas de controle e educação em saúde

- Inclusão do Médico Veterinário na equipe multiprofissional da atenção básica em saúde (Núcleo de Apoio à Saúde da Família – NASF)
- Vacinação dos cães contra leptospirose
- Controle populacional dos cães
- Controle de roedores
- Coleta de resíduos (orgânicos e recicláveis)
- Vigilância ao vetor da leishmaniose visceral (flebótomo)
- Inquéritos sorológicos sistemáticos nos cães para leptospirose e leishmaniose
- Tratamento dos animais sororreagentes para leptospirose
- Educação em saúde - encontros para discussão com a comunidade, palestras, teatro, distribuição de material educativo, orientando para os seguintes aspectos:
 - Exercício da posse responsável de animais de estimação (vacinar, vermifugar, controlar pulgas e carrapatos, não permitir o abandono e cães soltos nas ruas, cuidar da alimentação e banhos, destinar adequadamente as excretas, evitar crias não programadas).
 - Limpeza do quintal e ambiente domiciliar para evitar a aproximação e proliferação de animais sinantrópicos.
 - Zoonoses e suas implicações para a saúde pública.

6. REFERÊNCIAS

- ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y animales**. 3.ed. Washington, D.C.; Organización Panamericana de la Salud. 2001. p. xii.
- ADLER, B.; MOCZETUMA, A. de la P. *Leptospira* and leptospirosis. **Veterinary Microbiology**. In press. 2009. Disponível em: <<http://sciencedirect.com/science>>. Dói:10.1016/j.vetemic. Acesso em: 20 fev. 2012.
- AGUIAR, D. M.; CAVALCANTE, G. T.; MARVULO, M. F. V.; SILVA, J. C. R.; PINTER, A.; VASCONCELLOS, S. A.; MORAIS, Z. M.; LABRUNA, M. B.; CAMARGO, L. M. A.; GENNARI, S. M. Fatores de risco associados à ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em cães do município de Monte Negro, Rondônia, Amazônia Ocidental Brasileira. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v. 59, n. 1, p. 70-76, 2007.
- ALSTON, J. M.; BROWN, H. C. The Epidemiology of Weil's Disease. **Proceedings of the Royal Society of Medicine**. v. XXX, p. 741-756, 1937.
- ASSIS, J.; QUEIROZ, N. M. G. P.; SILVEIRA, R. C. V.; NUNES, C. M.; OLIVEIRA, T. M. F. S.; NORONHA JUNIOR, 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. **Ver. Bras. Parasitol. Vet.** Jaboticabal, v. 19, n. 1, p. 17-25, 2010.
- BATISTA, C. S. A.; AZEVEDO, S. S.; ALVES, C. J.; VASCONCELLOS, S. A.; MORAIS, Z. M.; CLEMENTINO, I. J.; LIMA, F. S.; ARAÚJO NETO, J. O. Soroprevalência de leptospirose em cães errantes da cidade de Patos, Estado da Paraíba, Brasil. **Braz J vet Res anim Sci.** v. 41, n. 2, p. 131-136, 2004.
- BATISTA, C. S. A.; ALVES, C. J.; AZEVEDO, S. S.; VASCONCELLOS, S. A.; MORAIS, Z. M.; CLEMENTINO, I. J.; ALVES, F. A. L.; LIMA, F. S.; ARAÚJO NETO, J. O. Soroprevalência e fatores de risco para leptospirose em cães de Campina Grande, Paraíba. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v. 57, supl. 2, p. 179-185, 2005.
- BADARÓ, R.; DUARTE, M.I.S. Leishmaniose visceral. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Tratado de infectologia**. Rio de Janeiro: Atheneu, 1997. p. 1234-59.
- BENTUBO, H. D. L.; TOMAZ, M. A.; BONDAN, E. F.; LALLO, M. A. Expectativa de vida e causas de morte em cães na área metropolitana de São Paulo (Brasil). **Ciência Rural.** v. 37, n. 4, 2007.
- BLAZIUS, R. D.; ROMÃO, P. R. T.; BLAZIUS, E. M. C. G.; SILVA, O. S. Ocorrência de cães errantes soropositivos para *Leptospira* spp na cidade de Itapema, Santa Catarina, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, v. 21 (6), p. 1952-1956, 2005.

BOLIN, C. A. Diagnosis of leptospirosis: a reemerging disease of companion animals. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animals)**, v. 11, n. 3, p. 166-171, 1996.

BONNETT, B.N. et al. Mortality in insured Swedish dogs: rates and causes of death in various breeds. **Veterinary Record**. v.141, n.12, p.40-44, 1997.

BOULOS, M.; ARANDA, C. M. S. S.; BUGNO, A.; KALICHMAN, A.; MARQUES, C. C. de A.; SILVEIRA, D.; EDUARDO, M. B. de P.; PIRES, M. de F. C.; CARVALHANAS, T. R.; CAMARGO-NEVES, V. Secretaria Estadual da Saúde. Coordenadoria de controle de doenças. **Boletim Epidemiológico Paulista**. v. 8, n. 96. 2011. p. 33.

BRANDESPIM, D. F.; GIRIO, R. J. S.; FERRAUDO, A. S.; AMARAL NETO, J.; MAGAJEVSKY, F. S. Utilização do sistema de informação georreferenciada (SIG) no estudo da ocorrência da *Leptospira interrogans* sorovares *canicola* e *icterohaemorrhagiae* na população canina do município de Jaboticabal, Estado de São Paulo. **Ars Veterinária**, v. 21, n. 1, 2005.

BRASIL. Ministério da saúde. **Guia de vigilância Epidemiológica**. 7 ed. Caderno 8. 2009. p. 15- 16.

BRASIL. Ministério da Saúde. Doenças Infecciosas e Parasitárias: **Guia de Bolso**. 8. ed. Brasília. 2010 p. 271

BRASIL. Portal da saúde, SUS.

<http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id_area=1561> acesso em: 15 jan 2013.

CÂMARA, V. M.; TAMBELLINI, A. T; Considerações sobre o uso da epidemiologia nos estudos em saúde ambiental. **Rev. Bras. Epidemiol**. v. 6, n. 2, 2003.

CAMARGO-NEVES, V. L. F.; GLASSER, C. M.; CRUZ, L. L.; ALMEIDA, R. G de. Secretaria de Estado da Saúde. Superintendência de Controle de Endemias – SUCEN e Coordenadoria de Controle de Doenças – CCD. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral Americana do Estado de São Paulo**. São Paulo. 2006. p. 122.

CARVALHO, M. R.; VALENÇA, H. F.; SILVA, F. J.; Natural *Leishmania infantum* infection in *Mygonomyia migonei* (França, 1920) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) the putative vector of visceral leishmaniasis in Pernambuco State, Brazil. **Acta Trop**. v.116, p. 108-110, 2010.

CÔRTEZ, J. A. **Epidemiologia: Conceitos e princípios fundamentais**, São Paulo: Varela, 1993. 277 p.

CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de Animais Selvagens – Medicina Veterinária**, 1. ed. Roca, 2007. p. 736-741.

CUNHA JÚNIOR, M. V. M. Análise multidimensional de dados categóricos: aplicação das análises de correspondência em marketing e sua integração com técnicas de análises de dados quantitativos. **Revista de Administração**, São Paulo, v. 35, n. 1, p. 32-50, 2000.

CUNNINGHAM, A.C. Parasitic adaptative mechanisms in infection by *Leishmania*. **Exp. Mol. Pathol**, v. 72, p. 132-141, 2002.

CUPOLLILO E.; MEDINA-ACOSTA, E.; NOYES, H.; MOMEN, H.; GRIMALDI, G, JR.; A revised classification for *Leishmania* and *Endotrupanum*. **Parasitol Today**. v. 16, n. 4, p. 142-4, 2000.

DANTAS-TORRES, F.; LORUSSO, V.; TETSINI, G.; CAVALCANTI, M. P.; 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. **Parasitol. Res**. v.106, n. 4, p. 857-860, 2010.

DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. **Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis**. v. 27, p. 305-18, 2004.

FARREL, J.P. *Leishmania*. **World Class Parasites**. v. 4, p. 45-57, 2002.

FAVERO, A. C. M.; PINHEIRO, S. R.; VASCONCELLOS, S. A.; MORIAS, Z. M.; FERREIRA, F.; NETO, J. S. F. Sorovares de leptospirosas predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, eqüinos, suínos e cães de diversos estados brasileiros. **Ciência Rural**. v. 32, p. 613-619, 2002.

FEITOSA, M. M.; IKEDA, F. A.; LUVIZOTTO, M. C. R.; PERRI, S. H. V. Aspectos clínicos de cães com leishmaniose visceral no município de Araçatuba-SP (Brasil). **Clín. Vet**. n. 28, p. 36-44, 2000.

FERRER, L. M. Clinical aspects of canine leishmaniasis. In: Proceedings of the International Canine Leishmaniasis: an update. Wiesbaden: **Hoeschst Roussel Vet**. p. 6-10, 1999.

FURTADO, L. R. I.; FEHLBERG, M. F. B.; AVILA, M. O.; TEIXEIRA, M. M.; ROSADO, R. L. I.; MARTINS, L. F. S.; BROD, C. S. Prevalência e avaliação de fatores de risco à leptospirose canina, no município de Pelotas, RS. **Arq. Inst. Biol**. v. 64, p. 57-81, 1997.

HAYASHIDANI, H. et al. Epidemiological studies on the expectation of life for dogs computed from animal cemetery records. **Japanese Journal of Veterinary Science** v.50, n.5, p.1003-1008, 1998.

HAIR, J. F.; TATHAM, R. L.; ANDERSON, R.E.; BLACK, W. **Análise multivariada de dados**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2005. 593 p.

HUTTNER, M. D.; PEREIRA, H. C. P.; TANAKA, R. M. Pneuonia por leptospirose. **J. Pneumologia**, v. 28, n. 4, p. 229-232, 2002.

IBGE. <<http://wikimapia.org/6436122/pt/C%C3%B3rrego-Rico>>
Acesso em: 02 ago. 2012.

ICAM. International Companion Animal Management Coalition. **Humane dog population management guidance**. 2007. p. 5.

IVERSSON, L.B.; PIRES, R.B.R.; RIBEIRO, M.A.; ESCRIVÃO-JÚNIOR, A. TOLEZANO, J.E.; BURALLI, G.M. Investigação epidemiológica de um novo caso de leishmaniose visceral ocorrido na Grande São Paulo, Brasil. **Rev. Saúde Pública**, v. 16, p. 205-209, 1982.

JOUGLARD, S. D. D.; BROD, C. S. Leptospirose em cães: prevalência e fatores de risco no meio rural do município de Pelotas, RS. **Arq. Inst. Biol.** v. 67, p. 181-185, 2000.

KOUTINAS, A. F.; SARIDOMICHELAKIS, M. N.; MYLONAKIS, M. E.; LEONTIDES, L.; POLIZOPOULOU, Z.; BILINIS, C. A randomized, blinded, placebo-controlled clinical trial with allopurinol in canine leishmaniosis. **Veterinary Parasitology**. v. 98, p. 247-61, 2001.

LAINSON, R.; The american leishmaniasis: some observations on their ecology and epidemiology. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** v. 77, p. 569-96, 1983.

LAINSON, R.; SHAW, J. J. Evolution, classification and geographical distribution. In: Peters W, Killick-Kendrick R, editors. **The Leishmaniases in Biology and Medicine**: v. 1. Biology and Epidemiology. London: Academic Press Inc; 1987. p. 1-120.

LAINSON, R.; SHAW, J.J.; SILVEIRA, F.T.; BRAGA, R. American visceral leishmaniasis: on the origin of Leishmania (Leishmania) chagasi. **Trans. R. Trop. Med. Hyg.**, v. 81, p. 517, 1987.

LARREY, D.J. Memoires de Chirurgie Militaire et Campagne. Smith, Paris, p.18, 1812.

LAURENTI, M. D. Correlação entre o diagnóstico parasitológico e sorológico na leishmaniose visceral americana canina. **Boletim Epidemiológico Paulista**. v. 6. n. 67. 2009. p. 13-23.

LEISHMAN, W. B.; On the possibility of the occurrence of trypanosomiasis in India. **Br. Med. J.** 1903; 1: 1252-1254.

LEMOES, J. P.; MELO, C. B.; VIEGAS, S. A. R. A. Análise sorológica de *Leptospira* spp. em cães errantes no município de Aracaju. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. n. 14, 2010.

LILENBAUM, W.; RIBEIRO, V. L.; BRUSTEIN, R. Leptospirose em cães clinicamente suspeitos no Rio de Janeiro, Brasil. **A hora veterinária**. n. 81, p. 48-49, 1994.

LILENBAUM, W.; RODRIGUES, F.; BARBOZA, F. Aglutininas antileptospiras em caninos do município amazônico de Oriximiná-Pará, Brasil. **R. bras. Ci. Vet.** v. 7, n. 3, p. 133-135, 2000.

LOBO, E. A.; LOVATTO, P. B.; TAUTZ, S. M.; PIRES NETO, J. A.; KLEIN, J. T.; SILVA, M. Ocorrência da predominância sorológica da leptospirose animal no município de Santa Cruz do Sul, RS, Brasil (2003-2005). **A hora Veterinária**, ano. 27, n. 160, p. 37-39, 2007.

LOPES, A. L. S.; SILVA, W. B.; PADOVANI, C. R.; LANGONI, H.; MODOLO, J. R. Frequência sorológica antileptospírica em cães: sua correlação com roedores e fatores ambientais, em área territorial urbana. **Arq. Inst. Biol.** v. 72, p. 289-296, 2005.

LUVIZOTTO, M. C. R.; BIAZZONO, L.; EUGÊNIO, F. R.; ANDRADE, A. L. **Leishmaniose visceral canina autóctone no município de Araçatuba-SP**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CLÍNICOS VETERINÁRIOS DE PEQUENOS ANIMAIS, 20, 1999, Águas de Lindóia. Anais. Águas de Lindóia, 1999. p. 24-25.

MACHADO, R. Z.; MONTASSIER, H. J.; PINTO, A. A.; LEMOS, E. G.; MACHADO, M. R.; VALADÃO, I. F.; BARCI, L. G.; MALHEIROS, E. B. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against *Babesia bovis* in cattle. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 71, p. 17-26, 1997.

MAGALHÃES, D. F.; SILVA, J. A.; MOREIRA, E. C.; WILKE, V. L. M.; HADDAD, J. P. A.; MENESES, J. N. C. Prevalência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em cães Belo Horizonte, Minas Gerais, 2001 a 2002. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v. 58, n. 2, p. 167-174, 2006.

MARIANO, B.; LIMA JÚNIOR, F. E. F.; GOMES, M. L. S.; PELISSARI, D. M.; DONATO, L. E.; MARCOS, W.; SILVA, R.A E.; NUNES, K. S. Análise comparativa da classificação epidemiológica de municípios com e sem transmissão de leishmaniose visceral em 2004 com relação à 2010. In: 15ª REUNIÃO DE PESQUISA APLICADA EM LEISHMANIOSES, 2001, Uberaba, **Anais...Uberaba**, 2011, p. 152.

MARTINS, L. S. **Situação epidemiológica da leptospirose bovina, canina e humana na área rural do município de Pirassununga, SP**. 2005. 79 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP. São Paulo, 2005.

MASCOLLI, R.; PINHEIRO, S. R.; VASCONCELLOS, S. A.; FERREIRA, F.; MORAIS, Z. M.; PINTO, C. O.; SUCUPIRA, M. C. A.; DIAS, R. A.; MIRAGLIA, F. CORTEZ, A. COSTA, S. S.; TABATA, R.; MARCONDES, A. G. Inquérito sorológico para leptospirose em cães do município de Santana de Parnaíba, São Paulo, utilizando a campanha de vacinação anti-rábica do ano de 1999. **Arq. Inst. Biol.** v. 69, p. 25-32, 2002.

MAURÍCIO, I. L.; STOHARD, J. R.; MILES, M. A. The strange case of Leishmania chagasi. **Parasitol Today**, v. 16, p. 188-99, 2000.

MIGONE, L.E. Un caso de kalazar a Assuncion (Paraguay). **Bull. De La Soc. De. Pathologie. Exotique.** v. 6, p. 118-120, 1913.

MIRANDA, J. C.; DIAS, E. S.; Vetores das Leishmanioses nas Américas. In: BARRAL, A.; COSTA, J.; editors. **Leishmanias e a Leishmaniose Tegumentar nas Américas.** 1. ed, Bahia, 2011, p. 55-64.

MODOLO, J. R.; LANGONI, H.; PADOVANI, C. R.; SHIMABUKURO, F. H.; MENDONÇA, A. O.; VICTORIA, C.; SILVA, W. B. Investigação soroepidemiológica de leptospirose canina na área territorial urbana de Botucatu, São Paulo, Brasil. **Braz. J. vet. Res. Ani. Sci.** v. 43, p. 598-604, 2006.

NOGUCHI, H. The survival of Leptospira (Spirochaeta) icterohaemorrhagiae in nature: Observations concerning microchemical reactions and intermediary hosts. **Journal of Experimental Medicine**, v. 27, p. 609-625, 1918.

NUNES, C. M.; DIAS, A. K.; GOTTARDI, F. P.; PAULA.H.B DE.; AZEVEDO, M. A. A DE.; LIMA, V. M. F DE.; GARCIA, J. F. Avaliação da reação em cadeia pela polimerase para diagnóstico da leishmaniose visceral em sangue de cães. **Ver. Bras. Parasitol. Vet.** v. 16, n. 1, p. 5-9, 2007.

OLIVEIRA, S. J.; PIRES NETO, J. A. S. Aspectos etiológicos e de diagnóstico nas leptospiroses. **Revista CFMV**, Brasília, n. 33, 2004.

OLIVEIRA, T. M. F. S. et al. 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.

OPS. Organización Panamericana de La Salud. Protección Ambiental. Washington, D.C. In: XXIII CONFERÊNCIA SANITÁRIA PANAMERICANA, XLII REUNIÓN DEL COMITÉ REGIONAL, 1990.

PENNA, H. A.; Leishmaniose visceral no Brasil. **Brasil-Médico.** v. 48, p. 949-50, 1934.

POZIO, E.; GRANDONI, L.; BETTINI, S.; GRANICIA, M. Leishmaniasis in Tuscany (Italy): VI Canine Leishmaniasis in the focus of Monte Argentario (Grosseto). **Acta Tropica**, v. 38, p. 383-93, 1981.

QUERINO, A. M. V.; DELBEM, A. C. D.; OLIVEIRA, R. C.; SILVA, F. G.; MÜLLER, E. E.; FREIRE, R. L.; FREITAS, J. C. Fatores de risco associados à leptospirose em cães do município de Londrina - PR. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina. v. 24, p. 27-34, 2003.

REICHMANN, M. L. A. B.; PINTO, H. B. F.; ARANTES, M. B.; DOS SANTOS, M. B.; VIARO, O.; NUNES, V. F. P. Educação e promoção da saúde no programa de controle da raiva. São Paulo: INSTITUTO PASTEUR, 2000, v. 5. 30p. (Manual Técnico).

SAKAMOTO, C. A. M.; BRESCIANI, K. D. S.; SERRANO, A. C. M.; LIMA, V. M. F.; MACHADO, G. F.; KANAMURA, C. T.; COSTA, A. J. Leishmaniose visceral canina em Jaboticabal – SP – Primeiro caso. **Ars Veterinária**. v. 23, n. 3, p.125-128, 2007.

SANTOS, V. M.; SANTOS, B. G.; MONTECHI, N. V.; JOHN, I. A. Leptospirose – Primeiro Relato de Casos Autóctones de Brasília. **Rev. Pat. Trop.** v. 8. n. 1-2, p. 15-33, 1979.

SANTOS, S. O.; ARIAS, J. R.; RIBEIRO, A. A.; HOFFMAN, M. P.; FREITAS, R. A.; MALACCO, M. A. F.; Incrimination of *Lutzomyia cruzi* as a vector of American Visceral Leishmaniasis. **Med Vet Entomol.** v. 12, p. 315-7, 1998.

SANTA ROSA, C. A. Diagnóstico laboratorial da leptospirose. **Rev. Microbiol.** v. 1, n. 9, p. 97-109, 1970.

SANTIN, K.; SELLA, A. B.; NADVORNY, A.; WOLFFENBÜTTEL, S.; CARDOSO, M. R. I.; SCHMIDT, V. Pesquisa de aglutininas anti-*Leptospira* em cães clinicamente saudáveis e em cães com suspeita clínica de leptospirose. **Clínica Veterinária**. n. 60, p. 48-51, 2006.

SARMENTO, A. M. C.; GUAZELLI, A.; BARRETO, L. F. G.; COSTA, V. M.; HOFFMANN, J. L.; LUCHEIS, S. B.; LANGONI, H.; PINHEIRO, S. R. Estudo da leptospirose em cães e gatos, da leishmaniose e da doença de chagas em cães de aldeias indígenas guaranis em Palheiros, município de São Paulo. **Vet e Zootec.** v. 14, p. 193-203, 2007.

SECUNDINO, N. F. C.; FREITAS, V. C.; PIMENTA, P. F. P. A Biologia da Interação dos Flebotomíneos com a *Leishmania*. In: BARRAL, A.; COSTA, J.; editors. **Leishmanias e a Leishmaniose Tegumentar nas Américas**. 1. ed, Bahia, 2011, p. 90-101.

SELBY, L. A.; RHOADES, J. D.; HEWETT, J. E.; IRVIN, J. A. A survey of attitudes toward responsible pet ownership. **Public Health Reports**, Rockville, v. 94, n. 4, p. 380-386, 1979.

SILVA, W.B.; SIMÕES, L.B.; PADOVANI, C.R.; LANGONI, H.; LOPES, A.L.S.; MODOLO, J.R. Inquérito sorológico e distribuição espacial da leptospirose canina em área territorial urbana da cidade de Botucatu, São Paulo. **Vet e Zootec.** v. 16, p. 656-668, 2009.

SILVA, V. M.; SOUSA, R. R.; GONÇALVES, R. G.; MORALES, L. E. A.; SOBRAL, I. G.; CRUZ, L. M.; SANTOS, I. O.; ROMERO, G. A. S. Isolamento de *Leishmania* sp. em *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) colatados em cães com leishmaniose, naturalmente infectados no Distrito Federal, Brasil. In: 15ª REUNIÃO DE PESQUISA APLICADA EM LEISHMANIOSES, 2001, Uberaba, **Anais...Uberaba**, 2011, p. 121.

SHAW, J.J.; Leishmanial taxonomy: A never Ending Academic Challenge. In: BARRAL, A.; COSTA, J.; editors. **Leishmanias e a Leishmaniose Tegumentar nas Américas**: 1. ed, Bahia, 2011, p. 6-10.

SLAPPENDEL, R.J.; FERRER, L. Leishmaniasis. In: _____.2. ed. Infectious Diseases of the Dog and Cat. Philadelphia: Saunders, 1998, cap.73, p.450-457.

TESSEROLLI, G. L.; ALBERTI, J. V. A.; AGOTTANI, J. V. B.; FAYZANO, L.; WARTH, J. F. G. Soroprevalência para leptospirose em cães de Curitiba, Paraná. **Rev. Acad. Curitiba.** v. 3, p. 35-38, 2005.

VASCONCELLOS, S.A. Zoonoses, 2009. Disponível em:
<<http://www.cevisa.ibiuna.sp.gov.br/Arquivos%20para%20baixar/zoonosesconceito.pdf>>
Acesso em 15 jan. 2013.

VIEGAS, S. A. R. de A.; TAVRES, C. H. T.; OLIVEIRA, E. M. de D.; DIAS, A. R.; MENDONÇA, F. F.; SANTOS, M. de F. P. Investigação sorológica para leptospirose em cães errantes nas cidade de Salvador-Bahia. **Ver. Bras. Saúde Prod. An.** v. 2, n.1, p. 21-30, 2001.

VIEIRA, A. M. L.; ALMEIDA, A. B.; MAGNABOSCO, C.; FERREIRA, J. C. P.; LUNA, S. L. P.; CARVALHO, J. L. B.; GOMES, L. H.; PARANHOS, N. T.; REICHMANN, M. L.; GARCIA, R. C.; NUNES, V. F. P.; CABRAL, V. B. Programa de controle de cães e gatos do Estado de São Paulo. **Boletim Epidemiológico Paulista**, São Paulo, n.33, 2006.

WERNECK, G. L. Expansão geográfica da leishmaniose visceral no Brasil. **Cad. Saúde Pública.** v. 26, n.4, p. 644-645, 2010.

WHO. World Health Organization. Essential leishmaniasis maps. 2010. Disponível em:
< http://www.who.int/leishmaniasis/leishmaniasis_maps/en/index.html >
Acesso em: 15 jan. 2013

WOOD, L.; GILES-CORTI, B.; BULSARA, M. The pet connection: pets as a conduit for social capital? **Social Science & Medicine**, Oxford, v. 61, n. 6, p. 1159-1173, 2005.

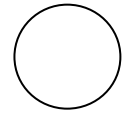
YASUDA, P. H.; SANTA ROSA, C. A.; YANAGUITA, R. M. Variação sazonal na prevalência de leptospirose em cães de rua na cidade de São Paulo, Brasil. **Rev. Saúde Pública**, v. 14, p. 589-596, 1980.

ZANELLA, J. Disponível em: < <http://www.unesp.br/aci/jornal/222/leish.php> >
Acesso em: 15 jan. 2013

ZANETTE, M. F. **Comparação entre os métodos de ELISA, imunofluorescência indireta e imunocromatografia para o diagnóstico de leishmaniose visceral canina. 2006. 75 f. Dissertação** (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Odontologia, Curso de Medicina Veterinária, UNESP, Araçatuba, 2006.

APÊNDICE A

Nome do proprietário: _____ **Telefone:** _____
Rua: _____ **Número:** _____
Quantas pessoas vivem na casa? _____
Idade do animal: _____ **Sexo (M ou F):** _____ **ID:** _____
Nome do animal: _____



total de cães

Procedência:

- Apareceu na rua
 Ganhou de alguém da cidade/ filho do meu cão
 Ganhou de alguém de outra cidade. Qual cidade? _____

Onde o animal fica?

- Dentro da casa/ quintal
 Passeia com coleira
 "Solto curto"
 "Solto longo"

Vacinado com v8 ou v10?

- Sim
 Não

Vacinado contra raiva no último ano?

- Sim
 Não

Qual vacina de raiva tomou?

- Campanha
 Clínica/casa agropecuária

Foi vermifugado nos últimos 6 meses?

- Sim
 Não

Teve ou tem contato com "ratos"?

- Sim Não

Bebeu água ou teve contato com lagoas ou enxurradas?

- Sim Não

Está parasitado por carrapatos?

- Não
 Até 10
 10 a 20
 + de 20

Estado Geral: (apatia, unhas grandes, caquexia, úlceras na pele e mucosas)

Pele íntegra? Sim Não O que aparentemente apresenta? _____

Ficou doente no último ano?

Não Sim O que? _____

APÊNDICE B

CASTRACÃO DE CÃES E GATOS

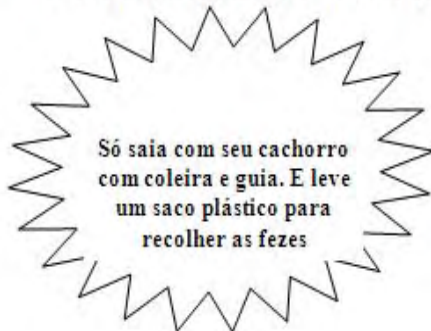
Crias indesejáveis são a maior causa de abandono de cães e gatos

Para o controle da população desses animais,
a melhor opção é a castração

É simples! É rápido! É seguro!

Lembre-se que um animal castrado:

- > vive mais
- > foge menos
- > briga menos
- > fica mais dócil e calmo (mas não fica bobo)
- > o macho pára de urinar por todo canto
- > tem menos problemas de doenças



SEJA RESPONSÁVEL PELO SEU ANIMAL DE ESTIMAÇÃO !!!

Ele precisa de cuidados:

- ✓ deve ser vacinado contra a Raiva e também contra outras doenças infecciosas
- ✓ não pode ter vermes nem carrapatos
- ✓ necessita ser alimentado muito bem e ter sempre água limpa para beber
- ✓ deve ter um local adequado para dormir
- ✓ precisa tomar banho regularmente
- ✓ deve ser castrado se as crias não puderem ter um destino adequado

E, o mais importante:

- > Nunca deixe seu animal solto nas ruas, mesmo se for castrado. Isso representa um grande perigo para a saúde dele e também das pessoas, além do risco de acidentes (mordidas e atropelamentos)

Lembre-se: quando for pegar um filhote, a família toda tem que aceitar e tratar bem o animal, sabendo que ele vai crescer e que poderá viver muitos anos.

Maltratar animais é crime, previsto por lei!



Todos têm consciência dessa responsabilidade?

APÊNDICE C

VOCÊ SABIA QUE.

...a partir do momento em que se leva um animal para casa, toda a família se torna **RESPONSÁVEL** por ele?

...cães e gatos podem viver muitos anos e **nunca devem ser abandonados**,

...crias indesejáveis são a maior causa de abandono?

...maltratar animal é **crime** previsto por **LEI**?

...deixar seu animal solto na rua representa um grande perigo para a saúde dele e também para sua família, além do risco de acidentes?

... **castração é a melhor opção** para o controle da população desses animais?
É simples! É rápido!
É seguro!

...seu animal de estimação deve ficar em um ambiente limpo, ser bem alimentado, ter água limpa para beber, local adequado para dormir e tomar banho regularmente?

...manter seu animal **livre de vermes, pulgas e carrapatos** previne a ocorrência de doenças, não apenas nele mas também nas pessoas que vivem com ele?

...cães e gatos devem ser **vacinados** todos os anos contra **RAIVA** e também contra outras doenças infecciosas?



Pois então, se sabe disso tudo, passe para todas as pessoas que você conhece!!!

Medicina Veterinária



NÃO COMPRE! ADOTE!