

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS**  
**CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**FATORES DE RISCO E ANÁLISE ESPACIAL PARA A**  
**LEISHMANIOSE VISCERAL NO MUNICÍPIO DE JUAZEIRO –**  
**BAHIA – BRASIL**

**Ana Amélia Domingues Gomes**

Médica Veterinária

**2013**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS**  
**CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**FATORES DE RISCO E ANÁLISE ESPACIAL PARA A**  
**LEISHMANIOSE VISCERAL NO MUNICÍPIO DE JUAZEIRO –**  
**BAHIA – BRASIL**

**Ana Amélia Domingues Gomes**  
**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Adjunto Mary Marcondes**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária (Clínica Médica Veterinária).

**2013**

## FICHA CATALOGRÁFICA (verso da 2ª. capa)

|       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| G633f | <p>Gomes, Ana Amélia Domingues</p> <p>Fatores de risco e análise espacial para a leishmaniose visceral no município de Juazeiro – Bahia – Brasil</p> <p>xvi, 120f. ; 28 cm</p> <p>Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2013</p> <p>Orientador: Mary Marcondes</p> <p>Banca examinadora: Estevam Guilherme Lux Hoppe, José Eduardo Tolezano, Mary Marcondes, Raimundo Souza Lopes, Rosemeri de Oliveira Vasconcelos.</p> <p>Bibliografia</p> <p>1. Animais domésticos 2. Geoprocessamento 3. Sorologia 4. PCR em tempo real 5. Zoonose I. Título. II. Jaboticabal -Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.</p> <p>CDU 619:614.91:636</p> |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.  
E-mail: anaamelia.gomes@univasf.edu.br

## **DADOS CURRICULARES DA AUTORA**

**ANA AMÉLIA DOMINGUES GOMES** - nasceu na cidade de São Paulo, SP, em 21 de janeiro de 1980, filha de Cecília Maróstica Domingues Gomes e Antônio Wilson Domingues Gomes. Ingressou no curso de graduação em Medicina Veterinária, da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba (FMVA) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) – Câmpus de Araçatuba, no ano de 2000, concluindo-o em dezembro de 2004. Durante os anos de 2005 a 2007 fez Residência – Médico Veterinária em Clínica Médica, Clínica Cirúrgica e Anestesiologia de Pequenos Animais, com ênfase em Clínica Médica de Pequenos Animais (2006-2007). No ano de 2007 ingressou no curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Clínica Médica Veterinária, junto a Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), UNESP – Câmpus de Jaboticabal, sob orientação da Profa. Adjunto Mary Marcondes, onde obteve o título de mestre em 2009 com a dissertação intitulada: *“Avaliação imunoistoquímica da musculatura estriada esquelética em cães com leishmaniose visceral”*. Em 2009 iniciou o doutorado no mesmo Programa de Pós-Graduação. Em abril de 2010 foi aprovada no concurso público para vaga do Magistério Superior, junto ao Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF), Petrolina, PE, na especialidade de Clínica Médica de Pequenos Animais, Diagnóstico por Imagem e Semiologia Veterinária. Atualmente é Diretora do Hospital Veterinário Universitário da UNIVASF.

*" Na vida, não vale tanto o que temos, nem tanto importa o que somos.  
Vale o que realizamos com aquilo que possuímos e, acima de tudo, importa  
o que fazemos de nós."*

*Francisco Cândido Xavier*

*" Seja a mudança que você quer ver no mundo."*

*Dalai Lama*



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**

**CAMPUS DE JABOTICABAL**

**FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL**

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO: FATORES DE RISCO E ANÁLISE ESPACIAL PARA A LEISHMANIOSE VISCERAL NO MUNICÍPIO DE JUAZEIRO - BAHIA - BRASIL**

**AUTORA: ANA AMÉLIA DOMINGUES GOMES**

**ORIENTADORA: Profa. Dra. MARY MARCONDES**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM MEDICINA VETERINÁRIA, Área: CLÍNICA MÉDICA VETERINÁRIA, pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. MARY MARCONDES

Departamento de Clínica e Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba

Profa. Dra. ROSEMERI DE OLIVEIRA VASCONCELOS

Departamento de Patologia Veterinária / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Prof. Dr. RAIMUNDO SOUZA LOPES

Departamento de Clínica Veterinária / Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu

Prof. Dr. ESTEVAM GUILHERME LUX HOPPE

Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Prof. Dr. JOSE EDUARDO TOLEZANO

Instituto Adolfo Lutz / São Paulo/SP

Data da realização: 02 de abril de 2013.

À minha querida avó Ivone, por ter me ensinado a amar, a ter fé e a nunca desistir.  
Suas palavras, sua bondade, devoção e humildade conduzem o meu caminho.  
Você é um exemplo de amor.  
Meu exemplo de vida ...

Ao meu esposo, Alexandre Redson ...  
Pela cumplicidade, amor, dedicação exaustiva e paciência.  
Agradeço a oportunidade de tê-lo ao meu lado.  
Com você tudo faz sentido!

**DEDICO**

## **AGRADECIMENTO ESPECIAL**

Em especial à minha orientadora, Professora Mary Marcondes,  
pela oportunidade, confiança, paciência, dedicação,  
ensinamentos e orientações durante todos esses anos.  
Agradeço pela compreensão nos momentos em que não pude estar presente.  
Agradeço pelo exemplo profissional.  
Minha eterna admiração e gratidão.

Aos proprietários dos animais que, apesar das dificuldades e  
sofrimentos, abriram suas casas e nos receberam com humildade,  
confiança e alegria, permitindo a realização deste projeto.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela vida, por estar sempre ao meu lado e por me proporcionar inúmeros meios para evoluir.

Aos meus pais, Antonio Wilson e Cecília, e aos meus irmãos André e Ana Cecília, pelo amor, carinho e compreensão nos momentos de ausência. O que nos separa é apenas a distância física, mas nós estaremos sempre ligados.

Ao Programa de Pós-graduação da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – FCAV / UNESP, Câmpus de Jaboticabal, pela oportunidade oferecida para a realização do Curso de Doutorado.

Aos Ex-coordenadores do Colegiado de Medicina Veterinária, Prof. Seldon Almeida de Sousa, Prof. Luiz Maurício Salviano, e ao atual coordenador do Colegiado Prof. René Geraldo Cordeiro Silva Júnior pelo apoio profissional concedido durante a realização do doutorado.

À Profa. Márcia Dalastra Laurenti e à auxiliar de laboratório Thayse Yumie Tomokane, pela amizade, paciência e auxílio no processamento das amostras realizadas no Laboratório de Investigações Médicas (LIM-50), do Departamento de Patologia, da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP).

À Profa. Mary Marcondes, pelo processamento da PCR em tempo real, realizado no Laboratório de Biologia Molecular da IDEXX *Reference Laboratories*.

Ao Prof. Cassiano Victória, pela receptividade, disponibilidade, inúmeras explicações, conselhos e auxílio essencial na elaboração da análise espacial, realizada no Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista (FMVZ-UNESP), Câmpus de Botucatu.

À Profa. Dra. Silvia Helena Venturoli Perri, docente da FMVA – UNESP – Câmpus Araçatuba, pela ajuda essencial e dedicação na elaboração da análise estatística.

À Profa. Caris Maroni Nunes, docente da FMVA – UNESP – Câmpus Araçatuba, pela orientação na elaboração deste projeto.

À Profa. Mary Marcondes, Profa. Mirela Tinucci Costa, Prof. Aureo Evangelista Santana, Prof. Antonio Carlos Alessi e Prof. Estevan G. L. Hoppe, pela contribuição no Exame Geral de Qualificação.

Aos Professores Estevan G. L. Hoppe, Mary Marcondes, Raimundo Souza Lopes, Rosimeri de Oliveira Vasconcelos e ao Dr. José Eduardo Tolezano pela participação e sugestões de melhorias na confecção da Tese.

Ao médico veterinário Alexandre Redson Soares da Silva, doutorando da FMVZ – UNESP, Câmpus Botucatu, pelo auxílio essencial na coleta das amostras e execução do projeto.

Aos médicos veterinários Suelen Jaiane Benevides da Silva e Laerton Medrado dos Santos, pelo auxílio na coleta das amostras.

À Secretaria Municipal de Saúde do município de Juazeiro-BA, por gentilmente disponibilizar o mapa digital da cidade, essencial para a realização da análise espacial, em especial ao servidor André.

À Secretaria de Promoção e Vigilância a Saúde do município de Juazeiro-BA, pela disponibilidade e permissão da colheita de material, em especial ao diretor Mário Sérgio Oliveira Machado.

Ao Coordenador de endemias, Edésio Joaquim dos Santos, e ao Coordenador do gatil/canil do município de Juazeiro-BA, Luiz Lucionildo C. Cavalcante, pelas orientações fornecidas durante a elaboração do projeto.

Ao Laboratório de Biologia Molecular da IDEXX *Reference Laboratories*, pela disponibilidade de conceder instalações e equipamentos para realização da parte experimental.

Ao técnico em Geoprocessamento para Gestão Ambiental da Fundação Instituto de Terras do Estado de São Paulo – ITESP, Joan Aparecido Santos Oliveira, por toda ajuda sempre dispensada.

Aos técnicos do Hospital Veterinário da UNIVASF, Regina Wolf Queiroz, Ivoneide Garcia, Marta Leite, Mário Alexandre e Eugênio Bispo, pela boa convivência e incentivo durante a realização deste projeto.

Ao amigo, colega de docência e vice-coordenador do Hospital Veterinário da UNIVASF, Prof. Adjunto Alexandre Coutinho Antonelli, pela amizade, conselhos e suporte na Coordenação do HV.

À querida amiga e irmã Thaís Rabelo dos Santos, pela amizade sincera e carinho.

À querida amiga Simone Bopp, pelos inúmeros incentivos pessoais e profissionais, e por tornar a minha vida no Nordeste mais alegre e com sentido.

À amiga Ludmila da Silva Vicente Sobrinho, pelas inúmeras ajudas durante minha carreira profissional, pelas conversas e conselhos durante todos esses anos.

À amiga Denise Tavares, pelo auxílio e carinho durante o doutorado.

Aos queridos amigos Durval Baraúna Júnior, Ana Catarina L. Albinati, Rafael Felipe da Costa Vieira e Monally Conceição Aquino, pela paciência, risadas e conselhos durante esta etapa.

Ao cão Pitty (*in memorian*) e aos gatos Filó (*in memorian*) e Miguel, pela pureza de sentimentos e por me incentivarem quanto à escolha e dedicação à profissão.

E por último, e não menos importante, a todos os animais que participaram involuntariamente desta pesquisa.

*“Ninguém cruza nosso caminho por acaso e nós não  
entramos na vida de alguém sem nenhuma  
razão.”*

*Francisco Cândido Xavier*

## SUMÁRIO

|                                                                                    | <b>Página</b> |
|------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| <b>ÍNDICE DE TABELAS.....</b>                                                      | iv            |
| <b>ÍNDICE DE QUADROS.....</b>                                                      | vi            |
| <b>ÍNDICE DE FIGURAS.....</b>                                                      | vii           |
| <b>ÍNDICE DE APÊNDICES E ANEXOS.....</b>                                           | xii           |
| <b>RESUMO.....</b>                                                                 | xiii          |
| <b>ABSTRACT.....</b>                                                               | xv            |
| <b>1. INTRODUÇÃO.....</b>                                                          | 1             |
| <b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>                                               | 3             |
| 2.1 Histórico e agentes etiológicos da leishmaniose visceral.....                  | 3             |
| 2.2 Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral em humanos<br>no Brasil..... | 4             |
| 2.3 Etiopatogenia da leishmaniose visceral.....                                    | 9             |
| 2.4 Vetor da leishmaniose visceral.....                                            | 10            |
| 2.5 Reservatórios e hospedeiros domésticos.....                                    | 12            |
| 2.5.1 Cães.....                                                                    | 12            |
| 2.5.2 Gatos.....                                                                   | 15            |
| 2.5.3 Outras espécies de animais domésticos.....                                   | 16            |
| 2.6 Diagnósticos de leishmaniose visceral.....                                     | 18            |
| 2.6.1 Métodos parasitológicos.....                                                 | 18            |
| 2.6.2 Métodos sorológicos.....                                                     | 19            |
| 2.6.3 Métodos moleculares.....                                                     | 23            |
| 2.7 Fatores de risco associados à ocorrência de leishmaniose<br>visceral.....      | 25            |
| 2.8 Medidas de prevenção e controle da leishmaniose visceral.....                  | 30            |

|                                                                               |           |
|-------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.9 Geoprocessamento e análise espacial.....                                  | 31        |
| <b>3. OBJETIVOS.....</b>                                                      | <b>34</b> |
| <b>4. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>                                            | <b>35</b> |
| 4.1 Área de estudo.....                                                       | 35        |
| 4.2 Identificação dos casos de leishmaniose visceral no município.....        | 37        |
| 4.3 Seleção de animais domésticos.....                                        | 38        |
| 4.4. Delineamento experimental.....                                           | 39        |
| 4.5 Colheita das amostras.....                                                | 40        |
| 4.6 Ensaio Imunoenzimático (ELISA) indireto para a leishmaniose visceral..... | 41        |
| 4.6.1 Produção de antígeno de <i>Leishmania infantum chagasi</i> .....        | 41        |
| 4.6.2 ELISA indireto – Espécie canina.....                                    | 41        |
| 4.6.3 ELISA indireto – Espécie felina.....                                    | 43        |
| 4.6.4 ELISA indireto – Outras espécies.....                                   | 43        |
| 4.7 Imunocromatografia para leishmaniose visceral – Outras espécies.....      | 44        |
| 4.8 Reação e cadeia de polimerase em tempo real (qPCR).....                   | 45        |
| 4.8.1 Extração do DNA.....                                                    | 45        |
| 4.8.2 Amplificação do DNA de <i>Leishmania</i> sp.....                        | 45        |
| 4.9 Análise espacial.....                                                     | 46        |
| 4.10 Análise estatística.....                                                 | 47        |
| 4.11 Aspectos éticos.....                                                     | 48        |
| <b>5. RESULTADOS.....</b>                                                     | <b>49</b> |
| 5.1 Área de estudo.....                                                       | 49        |
| 5.1.1 Ruas e domicílios.....                                                  | 50        |
| 5.1.2 Bairros visitados.....                                                  | 54        |

|                                                                                |            |
|--------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 5.1.3 População animal.....                                                    | 58         |
| 5.2 Pesquisa de leishmaniose visceral e de fatores de risco<br>envolvidos..... | 61         |
| <b>6. DISCUSSÃO.....</b>                                                       | <b>77</b>  |
| <b>7. CONCLUSÃO.....</b>                                                       | <b>87</b>  |
| <b>8. REFERÊNCIAS.....</b>                                                     | <b>88</b>  |
| <b>APÊNDICES.....</b>                                                          | <b>113</b> |
| <b>ANEXOS.....</b>                                                             | <b>117</b> |

## ÍNDICE DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Página |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| <b>Tabela 1.</b> Distribuição do número de habitantes e de animais por residência, de acordo com o bairro visitado, no município de Juazeiro – BA (Jaboticabal – SP, 2013).                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 56     |
| <b>Tabela 2.</b> Distribuição quanto às características das residências visitadas, de acordo com o tipo de construção, número de cômodos, presença e tipo de quintal, criação de galinhas, bem como a presença de mato e lixo domiciliar/peridomiciliar e esgoto canalizado nos diferentes bairros do município de Juazeiro - BA. Número de habitantes e de construções por bairro de acordo com os dados da SMS de Juazeiro-BA (Jaboticabal – SP, 2013)..... | 57     |
| <b>Tabela 3.</b> Distribuição quanto à espécie, sexo, faixa etária e acesso a rua de 498 animais avaliados em residências localizadas em um raio de 250 metros ao redor de casos humanos de leishmaniose visceral, nos diferentes bairros do município de Juazeiro – BA (Jaboticabal – SP, 2013).....                                                                                                                                                         | 60     |
| <b>Tabela 4.</b> Resultado da pesquisa de anticorpos anti- <i>Leishmania</i> sp. e de DNA de <i>L. infantum chagasi</i> em uma população de 498 animais do município de Juazeiro – BA. Número absoluto e percentagem (Jaboticabal – SP, 2013).....                                                                                                                                                                                                            | 61     |
| <b>Tabela 5.</b> Fator de risco, quanto à espécie, para a infecção por <i>L. infantum chagasi</i> em animais domésticos do município de Juazeiro-BA. Odds ratio (OR) e respectivo intervalo de confiança (IC) a 95% (Jaboticabal – SP, 2013).....                                                                                                                                                                                                             | 62     |

|                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |    |
|-------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 6.</b>  | Fatores de risco, quanto ao sexo, idade e acesso à rua, para a infecção por <i>L. infantum chagasi</i> em cães e gatos do município de Juazeiro-BA. Odds ratio (OR) e respectivo intervalo de confiança (IC) a 95% (Jaboticabal – SP, 2013).....                                                                                           | 66 |
| <b>Tabela 7.</b>  | Fatores de risco para a ocorrência de leishmaniose visceral em animais de acordo com o número de animais e de habitantes por residência no município de Juazeiro – BA. (Jaboticabal – SP, 2013). Odds ratio (OR) e respectivo intervalo de confiança (IC) a 95% (Jaboticabal – SP, 2013).....                                              | 64 |
| <b>Tabela 8.</b>  | Distribuição e associação da distância média entre as residências com humanos com leishmaniose visceral (LVH) e casas com animais com e sem leishmaniose visceral (LV), no município de Juazeiro – BA. Odds ratio (OR) e respectivo intervalo de confiança (IC) a 95% (Jaboticabal – SP, 2013).....                                        | 66 |
| <b>Tabela 9.</b>  | Distribuição das casas com e sem animais portadores de leishmaniose visceral (LV), de acordo com os bairros visitados, no município de Juazeiro – BA (Jaboticabal – SP, 2013).....                                                                                                                                                         | 66 |
| <b>Tabela 10.</b> | Fatores de risco para a ocorrência de leishmaniose visceral em animais, de acordo com o tipo de construção de casas, número de cômodos e características do quintal, nas residências do município de Juazeiro – BA. (Jaboticabal – SP, 2013). Odds ratio (OR) e respectivo intervalo de confiança (IC) a 95% (Jaboticabal – SP, 2013)..... | 70 |

## ÍNDICE DE QUADROS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | <b>Página</b> |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| <b>Quadro 1.</b> Distribuição quanto ao número de habitantes, número de domicílios permanentes e número de casos de leishmaniose visceral entre os anos de 2007 e 2010, nos diferentes bairros do município de Juazeiro – BA, segundo a Secretaria Municipal de Saúde (Jaboticabal – SP, 2013).....           | 38            |
| <b>Quadro 2.</b> Características das residências e do ambiente das 298 casas visitadas no município de Juazeiro - BA, de acordo com o número de cômodos (Jaboticabal – SP, 2013).....                                                                                                                         | 53            |
| <b>Quadro 3.</b> Distribuição em número e percentagem quanto à espécie, sexo, faixa etária e acesso a rua, de uma população de 498 animais do município de Juazeiro - BA (Jaboticabal – SP, 2013).....                                                                                                        | 59            |
| <b>Quadro 4.</b> Número total de cães e gatos avaliados por bairro, casos humanos de leishmaniose visceral (LVH), número absoluto e percentagem (%) de animais infectados (positivo) e não infectados (negativo) no município de Juazeiro - BA, de acordo com o bairro avaliado (Jaboticabal – SP, 2013)..... | 65            |
| <b>Quadro 5.</b> Distribuição, em número e percentagem, de casas visitadas num raio de 250 metros de distância de residências com casos humanos de leishmaniose visceral (LVH), de acordo com o bairro e a presença de animais infectados (casas com LV) ou não (casas sem LV) (Jaboticabal – SP, 2013).....  | 69            |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                                                         | <b>Página</b> |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| <b>Figura 1.</b> Distribuição do número de casos de leishmaniose visceral em humanos no Brasil, de acordo com o ano de referência, segundo dados da Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), do Ministério da Saúde (MS).....                           | 5             |
| <b>Figura 2.</b> Mapa de estratificação de leishmaniose visceral de acordo com o município de residência e média de casos de 2008 a 2010, segundo os dados da Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), do Ministério da Saúde (MS). BRASIL, 2012e ..... | 6             |
| <b>Figura 3.</b> Número absoluto de casos e de óbitos de pacientes com leishmaniose visceral, de acordo com o ano de referência, no município de Juazeiro – BA, segundo dados da Secretaria de Vigilância e Saúde (SVS) do Ministério da Saúde.....     | 8             |
| <b>Figura 4.</b> Taxa de letalidade da leishmaniose visceral, de acordo com o ano de referência, no município de Juazeiro – BA, segundo dados da Secretaria de Vigilância e Saúde (SVS) do Ministério da Saúde.....                                     | 8             |
| <b>Figura 5.</b> Localização geográfica do Estado da Bahia (azul) e do município de Juazeiro – BA (amarelo) (Jaboticabal – SP, 2013).....                                                                                                               | 35            |
| <b>Figura 6.</b> Imagem aérea obtida por satélite mostrando a localização e proximidade das cidades Petrolina – PE e Juazeiro – BA (Jaboticabal – SP, 2013).....                                                                                        | 36            |

|                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                              |    |
|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 7.</b>  | Imagem aérea demonstrando a localização e proximidade entre as cidades de Juazeiro – BA e Petrolina – PE (Jaboticabal – SP, 2013).....                                                                                                                                                       | 37 |
| <b>Figura 8.</b>  | Localização das 20 residências com caso humano de leishmaniose visceral (estrelas verdes), distribuídas nos diferentes bairros do município de Juazeiro – BA. Linhas em vermelho delimitam setores do município, de acordo com a Secretaria Municipal de Saúde (Jaboticabal – SP, 2013)..... | 49 |
| <b>Figura 9.</b>  | Ilustração de equinos bebendo água no esgoto não canalizado em uma rua do bairro Padre Vicente, município de Juazeiro – BA (Jaboticabal – SP, 2013)..                                                                                                                                        | 51 |
| <b>Figura 10.</b> | Ilustração de terreno baldio, presença de lixo e mato no Bairro Piranga, município de Juazeiro - BA (Jaboticabal – SP, 2013).....                                                                                                                                                            | 51 |
| <b>Figura 11.</b> | Ilustração de residências de taipa (seta vermelha) e de alvenaria (seta azul) localizadas no bairro Piranga I, município de Juazeiro – BA (Jaboticabal – SP, 2013).....                                                                                                                      | 52 |
| <b>Figura 12.</b> | Distribuição, em percentagem, da presença de galinheiros, mato, lixo peridomiciliar e/ou domiciliar e esgoto não canalizado nas residências visitadas, localizadas nos diferentes bairros do município de Juazeiro – BA (Jaboticabal – SP, 2013).....                                        | 55 |
| <b>Figura 13.</b> | Ilustração de uma rua não pavimentada, com presença de lixo e esgoto a céu aberto, localizada no bairro Padre Vicente, município de Juazeiro – BA (Jaboticabal – SP, 2013).....                                                                                                              | 55 |

|                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |    |
|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 14.</b> | Imagem de estábulo de madeira (seta) usado como abrigo para equinos de tração, localizado em terreno baldio. Bairro Piranga, município de Juazeiro - BA (Jaboticabal – SP, 2013).....                                                                                                                                                  | 59 |
| <b>Figura 15.</b> | Distribuição das 26 residências com animais portadores de leishmaniose visceral (estrelas vermelhas), nos diferentes bairros do município de Juazeiro – BA. Linhas em vermelho delimitam setores do município, de acordo com a Secretaria Municipal de Saúde (Jaboticabal – SP, 2013).....                                             | 64 |
| <b>Figura 16.</b> | Distribuição das residências com animais (estrelas vermelhas) e seres humanos (estrelas verdes) portadores de leishmaniose visceral, nos diferentes bairros do município de Juazeiro – BA. Linhas em vermelho delimitam setores do município, de acordo com a Secretaria Municipal de Saúde (Jaboticabal – SP, 2013).....              | 67 |
| <b>Figura 17.</b> | Mapa de distribuição de Kernel para as residências com animais portadores de leishmaniose visceral, localizadas nos diferentes bairros do município de Juazeiro – BA. A graduação de cores refere-se à intensidade elevada (laranja escuro), moderada (laranja) e leve (amarelo) de ocorrência do evento (Jaboticabal – SP, 2013)..... | 68 |
| <b>Figura 18.</b> | Análise de vizinhança para avaliação da associação de proximidade das residências com humanos portadores de leishmaniose visceral (A); dos imóveis visitados (B) e dos domicílios com animais infectados (C), no município de Juazeiro - BA. Valor de p significativo para 5% (Jaboticabal – SP, 2013).....                            | 71 |

- Figura 19.** Mapa de distribuição de Kernel para a presença de galinheiros nas residências localizadas nos diferentes bairros do município de Juazeiro – BA. A graduação de cores refere-se à intensidade elevada (laranja escuro), moderada (laranja) e leve (amarelo) de ocorrência do evento (Jaboticabal – SP, 2013)..... 72
- Figura 20.** Mapa de predição de Kernel para a presença de galinheiros nas residências localizadas nos diferentes bairros do município de Juazeiro – BA. A graduação de cores refere-se ao risco intenso (laranja escuro), moderado (laranja) e leve (amarelo) de infecção por *L. infantum chagasi* (Jaboticabal – SP, 2013)..... 72
- Figura 21.** Mapa de distribuição de Kernel para a presença de lixo nas residências localizadas nos diferentes bairros do município de Juazeiro – BA. A graduação de cores refere-se à intensidade elevada (laranja escuro), moderada (laranja) e leve (amarelo) de ocorrência do evento (Jaboticabal – SP, 2013)..... 74
- Figura 22.** Mapa de distribuição de Kernel para a presença de mato nas residências localizadas nos diferentes bairros do município de Juazeiro – BA. A graduação de cores refere-se à intensidade elevada (laranja escuro), moderada (laranja) e leve (amarelo) de ocorrência do evento (Jaboticabal – SP, 2013)..... 74
- Figura 23.** Mapa de predição de Kernel para a presença lixo nas residências localizadas nos diferentes bairros do município de Juazeiro – BA. A graduação de cores refere-se ao risco intenso (laranja escuro), moderado (laranja) e leve (amarelo) de infecção por *L. infantum chagasi* (Jaboticabal – SP, 2013)..... 75

- Figura 24.** Mapa de predição de Kernel para a presença de mato nas residências localizadas nos diferentes bairros do município de Juazeiro – BA. A graduação de cores refere-se ao risco intenso (laranja escuro), moderado (laranja) e leve (amarelo) de infecção por *L. infantum chagasi* (Jaboticabal – SP, 2013)..... 75
- Figura 25.** Mapa de distribuição de Kernel para a ausência de esgoto canalizado nas residências localizadas nos diferentes bairros do município de Juazeiro – BA. A graduação de cores refere-se à intensidade elevada (laranja escuro), moderada (laranja) e leve (amarelo) de ocorrência do evento (Jaboticabal – SP, 2013)..... 76
- Figura 26.** Mapa de predição de Kernel para a ausência de esgoto canalizado nas residências localizadas nos diferentes bairros do município de Juazeiro – BA. A graduação de cores refere-se ao risco intenso (laranja escuro), moderado (laranja) e leve (amarelo) de infecção por *L. infantum chagasi* (Jaboticabal – SP, 2013)..... 76

## ÍNDICE DE APÊNDICES E ANEXOS

|                                                                                                                                                                                                                                        | <b>Página</b> |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| <b>Apêndice A.</b> Ficha de investigação para leishmaniose visceral – Sistema de Informação de Agravos de Notificação – SINAN – Ministério da Saúde.....                                                                               | 113           |
| <b>Apêndice B.</b> CEUA – Comissão de ética no uso de animais (Jaboticabal – SP, 2013).....                                                                                                                                            | 115           |
| <b>Anexo A.</b> Termo de consentimento livre esclarecido. (Jaboticabal – SP, 2013).....                                                                                                                                                | 117           |
| <b>Anexo B.</b> Características dos domicílios, ambiente e população animal, localizados e residentes ao redor de 250 metros do caso humano positivo para leishmaniose visceral, município Juazeiro – BA (Jaboticabal – SP, 2013)..... | 118           |

## FATORES DE RISCO E ANÁLISE ESPACIAL PARA A LEISHMANIOSE VISCERAL NO MUNICÍPIO DE JUAZEIRO – BAHIA - BRASIL

**RESUMO** - O objetivo do presente estudo foi determinar a presença de anticorpos anti-*Leishmania* sp. no soro e de DNA de *Leishmania infantum chagasi* no sangue periférico das diversas espécies de animais domésticos, residentes em um raio de 250 metros de distância de seres humanos portadores de leishmaniose visceral (LV), bem como avaliar as características ambientais, em uma região da cidade de Juazeiro (BA), na tentativa de determinar os possíveis fatores de risco para a ocorrência da doença. Para tanto, após a seleção de 21 casos humanos de LV distribuídos em seis bairros do município, realizou-se a sorologia e a reação em cadeia de polimerase em tempo real (qPCR) de soro e sangue total, respectivamente, de 498 animais, sendo 383 (76,91%) da espécie canina, 84 (16,87%) felina, 15 (3,00%) caprina, 12 (2,42%) equídea e 4 (0,80%) ovina. A prevalência de LV, considerando-se os resultados sorológicos e da qPCR, foi de 6,43% (32/498), sendo 5,75% (22/383) na população de cães e 11,90% (10/84) na de gatos. Vinte cães (5,22%) e 10 (11,90%) gatos foram sororreagentes e as outras espécies não apresentaram anticorpos anti-*Leishmania* sp. Apenas dois (0,40%) dos 498 animais apresentaram DNA do parasita no sangue, ambos da espécie canina e sem a presença de anticorpos séricos anti-*Leishmania* sp. Os gatos apresentaram duas vezes mais chances de se tornarem portadores da LV que os cães (OR=2,21; IC=1,1-4,87; p=0,043), e os felinos domiciliados apresentaram um risco 9,57 vezes maior de se infectarem que os gatos semidomiciliados (OR=9,57; IC=2,21-41,37; p=0,0006). O acesso a rua não foi associado com a doença em cães, e o sexo e a faixa etária não constituíram um risco para os animais contraírem esta zoonose. A presença de mais de um animal por domicílio aumentou em 3,46 vezes as chances de infecção na população estudada (OR=3,46; IC=1,49-8,06; p=0,0025). A quantidade de habitantes por moradia, a distância dos casos humanos de LV, o tipo de construção da casa, o número de cômodos e a presença de quintal de terra não foram correlacionados com a infecção por *L. infantum chagasi* em animais. Entretanto, por meio de análise espacial verificou-se que as regiões com residências que criavam galinhas, com presença de lixo, mato peridomiciliar e ausência de rede de esgoto podem constituir áreas de alto risco para infecção por *L.*

*infantum chagasi*. Desta forma é possível concluir que os gatos podem estar agindo como importantes reservatórios de LV e atuando como sinalizadores de doença na região. Além disso, cabe salientar que o número de animais por moradia e as características do meio ambiente podem favorecer a manutenção e expansão da LV no município de Juazeiro - Bahia.

**Palavras-chaves:** animais domésticos, geoprocessamento, sorologia, PCR em tempo real, zoonose

## RISK FACTORS AND SPATIAL ANALYSIS FOR VISCERAL LEISHMANIASIS IN THE CITY OF JUAZEIRO - BAHIA STATE - BRAZIL

**ABSTRACT** - The aim of the present study was to determine the presence of antibodies anti-*Leishmania* sp. in serum and DNA of *Leishmania infantum chagasi* in peripheral blood of domestic animals living within a 250 m perimeter from human cases of visceral leishmaniasis (VL), as well as to evaluate the environmental characteristics, in the region of the city of Juazeiro, Bahia, in an attempt to determine possible risk factors for the occurrence of the disease. For this, after the selection of 21 human cases of VL distributed in six neighborhoods of Juazeiro, serology and real time polymerase chain reaction (qPCR) in whole blood were performed in 498 animals, being 383 (76.91%) dogs, 84 (16.87%) cats, 15 (3%) goats, 12 (2.42%) equids, and 4 (0.8%) sheep. The prevalence of VL, considering serological and qPCR results, was 6.43% (32/498), being 5.75% (22/383) dogs and 11.9% (10/84) cats. Twenty (5.22%) dogs and 10 (11.9%) cats were seroreactive and the others species did not present antibodies anti-*Leishmania* sp. Only two (0.40%) out of 498 animals presented the parasite DNA in blood, both dogs without the presence of anti-*Leishmania* antibodies. Cats were two times more likely to have VL than dogs (OR = 2.21; 95% CI, 1.1 - 4.87; p = 0.043), and the domiciled cats were more likely to be positive for VL than semi-domiciled (OR=9.57; 95% CI, 2.21 - 41.37; p=0.0006). Access to the street was not associated to the disease in dogs, and sex and gender did not constitute a risk factor for the development of VL. The presence of more than one animal per household increased in 3.46 times the odds of infection in the population (OR=3,46; IC=1,49-8,06; p=0,0025). No significant association was found between the number of people per household, the distance from human VL cases, the type of house walls, the number of rooms, or the presence of mud backyard and positivity to *L. infantum chagasi* on animals. However, spatial analysis estimated that the regions with households that raised chickens, with the presence of garbage, vegetation in the peridomestic environment and lack of sewage system may constitute areas with high risk for infection by *L. infantum chagasi*. In conclusion, cats may be acting as important reservoirs of VL and may be acting as markers of disease in this region. Moreover, it is noteworthy that the number of animals per household and environment characteristics may promote the maintenance and expansion of VL, in the city of Juazeiro, Bahia.

**Keywords:** domestic animals, geoprocessing, serology, real time PCR, zoonosis.

## 1. INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral (LV) é uma zoonose negligenciada que constitui um grave problema de saúde pública em grande parte do mundo. No Brasil a enfermidade vem se expandindo, principalmente em grandes centros urbanos e, somente no ano de 2011, 4.261 casos foram notificados em 25 dos 27 estados brasileiros (BRASIL, 2012e). A região nordeste do país ainda é responsável pela maior parte dos casos de LV em seres humanos e cerca de 52% dos municípios baianos já notificaram a doença.

O município de Juazeiro, localizado na região norte do estado da Bahia, vem se tornando a região mais industrializada do Vale do São Francisco. Em conjunto com a cidade de Petrolina (PE) firmou-se como o maior centro de exportação de frutas tropicais e o segundo pólo de vinicultura do Brasil. Os dois municípios constituem o maior aglomerado urbano da região semiárida. No entanto, associado ao crescente desenvolvimento urbano vem ocorrendo um intenso desmatamento, crescimento populacional desordenado, migração de seres humanos e animais domésticos para a periferia da cidade e uma elevação no índice de desemprego, o que, associado às precárias condições ambientais e socioeconômicas, vem favorecendo a expansão e manutenção da LV nesta região. Atualmente o município é classificado como uma área de intensa transmissão da doença.

Em grande parte do município as moradias são precárias, com ausência de saneamento básico, presença de mato e lixo peridomiciliar, além de matéria orgânica nos quintais e arredores, decorrente da criação de animais domésticos e aves, particularmente galinhas, pelos moradores. Estes se constituem um importante fator de risco para a ocorrência e manutenção da LV, uma vez que favorecem a proliferação dos flebotomíneos permitindo a expansão desta zoonose no município.

Além dos cães, estudos prévios demonstraram que outras espécies animais podem estar envolvidas no ciclo epidemiológico da LV, servindo como fonte de alimento para fêmeas de *Lutzomyia longipalpis* ou como possíveis fontes de infecção para outros animais e seres humanos. Por essa razão, é de grande importância que seja elucidado o papel dessas espécies em áreas endêmicas para a doença, com o objetivo de auxiliar no delineamento de programas de controle da LV.

A caracterização dos possíveis reservatórios domésticos deve ser feita a partir da associação de métodos de diagnóstico capazes de detectar a infecção tanto em fases iniciais quanto em fases mais crônicas da doença. De maneira geral, a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é mais eficiente para detectar estágios iniciais da doença, antes da realização da soroconversão; enquanto a sorologia é indicada para identificar animais em estágios mais avançados de infecção. A técnica de PCR em Tempo Real (qPCR) é um método que pode detectar níveis muito baixos de parasitas no sangue e em tecidos, sendo mais sensível e específica do que a PCR convencional.

Com o intuito de auxiliar na identificação de áreas de risco e elaborar medidas de controle para a LV, a análise espacial permite visualizar a distribuição e deslocamento espacial da enfermidade no decorrer do tempo, identificar os padrões geográficos de morbidade e mortalidade, espacializar os fatores de risco ambientais e socioeconômicos, além de permitir a interação de mapas e dados georreferenciados, não visualizados em mapas comuns.

Em virtude do que foi exposto, o presente estudo teve por objetivos pesquisar a presença de anticorpos anti-*Leishmania* sp. e de DNA de *Leishmania infantum chagasi* no sangue periférico de diversas espécies de animais domésticos, como caninos, felinos, caprinos, ovinos, asininos, muares e equinos que residem perto de seres humanos com diagnóstico de LV no município de Juazeiro, Bahia, na tentativa de caracterizá-los como sinalizadores de infecção para seres humanos, além de determinar os possíveis fatores de risco para a ocorrência da enfermidade.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Histórico e agentes etiológicos da leishmaniose visceral

Em 1903, um parasita ovalado identificado no interior de macrófagos, com morfologia diferente de *Trypanossoma*, foi identificado quase que simultaneamente por Willian Leishman e Charles Donovan, após realizarem esfregaços esplênicos em pacientes na Índia, com uma doença fatal endêmica denominada Febre Dum-Dum ou Kala-azar (DONOVAN, 1903; MICHALICK ; GENARO, 2007). O parasita foi primeiramente classificado como um piroplasma (*Piroplasma donovani*) por Laveran; Mesnil (1903), entretanto, ainda em 1903, Ross criou o gênero *Leishmania*, denominando *Leishmania donovani* o agente etiológico da leishmaniose visceral (LV) (ROSS, 1903).

Nas Américas, a doença em seres humanos teve sua primodescrição em 1913 quando Migone, em Assunção (Paraguai), identifica um caso por meio de autópsia de um indivíduo proveniente do município de Boa Esperança, no Mato Grosso do Sul. Em 1934 Penna, examinando 47.000 lâminas de viscerotomias realizadas para o estudo da distribuição geográfica da febre amarela no Brasil, encontrou 41 casos de LV em pessoas provenientes do norte e nordeste do país (BRASIL, 2006; MICHALICK ; GENARO, 2007). Já no ano de 1936, Evandro Chagas realizou, por meio de punção esplênica, o primeiro diagnóstico *in vivo* da doença, classificando *Leishmania chagasi* como uma nova espécie do gênero *Leishmania*. Além disso, apontou *Lutzomyia longipalpis* como o provável vetor da LV no Brasil (CUNHA; CHAGAS, 1937).

Atualmente os agentes etiológicos da LV são classificados como protozoários da ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae e gênero *Leishmania* (ROSS, 1903). Fazem parte do complexo *Leishmania donovani*, sendo *Leishmania donovani* o agente etiológico encontrado na África e Ásia; *Leishmania infantum* na Ásia, Europa e África e *Leishmania chagasi* nas Américas. Apesar da discordância entre pesquisadores (DANTAS-TORRES, 2006) Shaw (2006) sugere que, por desconhecer a origem, identidade e epidemiologia dos protozoários *L. infantum* e *L.*

*chagasi*, torna-se mais prudente usar a denominação *L. infantum chagasi* para o agente etiológico desta enfermidade nas Américas.

## **2.2 Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral em humanos no Brasil**

A LV é descrita em todos os continentes, com exceção da Oceania, com casos humanos relatados em cerca de 66 países localizados em regiões tropicais e subtropicais (DESJEUX, 2004; ALVAR et al., 2006; BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2012). Cerca de 90% dos casos mundiais ocorrem no Afeganistão, Bangladesh, Índia, Sudão, Etiópia e Brasil (ALVAR et al., 2012; WHO, 2012).

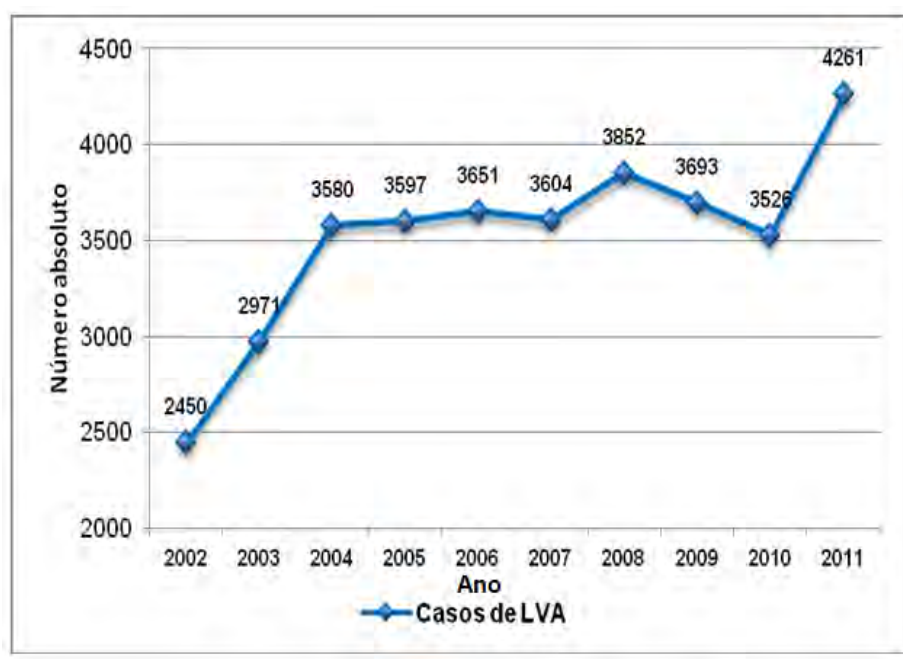
A LV é uma zoonose reemergente e, de acordo com estimativas da Organização Mundial de Saúde (OMS), aproximadamente 200 milhões de pessoas residem em área de risco, e cerca de 200.000 a 400.000 novos casos e 58.000 óbitos são registrados anualmente (ALVAR et al., 2012; WHO, 2012). Infelizmente esses dados são subestimados, uma vez que a afecção é de notificação compulsória em apenas 40% dos países em que ocorre (DESJEUX, 2004; ALVAR et al., 2012). Outro fato importante é que o número de seres humanos assintomáticos ou expostos à LV é muitas vezes superior ao número de casos detectados (MORENO ; ALVAR, 2002).

Mesmo com grande parte dos casos de LV sub-notificados, o Brasil é responsável por aproximadamente 95% dos relatos da América Latina (ALVAR et al., 2012), sendo que de 2002 a meados de 2012 foram notificados 36.132 casos humanos no Brasil, com 4.261 relatos somente no ano de 2011 (Figura 1) (BRASIL, 2012e). Estima-se que em 2013, o número de pacientes infectados por *Leishmania infantum chagasi* seja superior aos anos anteriores, chegando ao redor de 6.300 casos (ALVAR et al., 2012). Quanto a taxa de letalidade no Brasil, a mesma se elevou nos últimos dez anos, apresentando uma média de 6,8%, com cerca de 2.500 óbitos notificados (BRASIL, 2012c; BRASIL, 2012d).

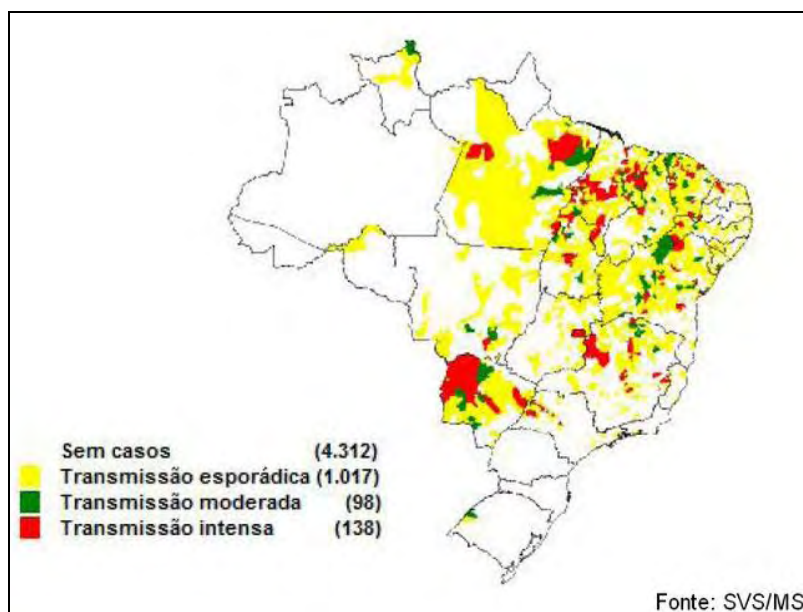
Além dos elevados índices de letalidade e mortalidade, a leishmaniose vem apresentando grande expansão geográfica no território brasileiro. De acordo com o Ministério da Saúde, no ano de 2011, dos 27 estados brasileiros 25 já notificaram casos autóctones da enfermidade, principalmente nas regiões norte, sudeste e nordeste (BRASIL, 2012a; BRASIL, 2012e). Cerca de 230 municípios são

classificados como áreas de transmissão intensa (com mais que 4,4 casos /100.000 habitantes nos últimos três anos) ou moderada (entre 2,4 e 4,4 casos/100.000 habitantes nos últimos três anos), demonstrando a importância e a expansão da enfermidade em território nacional (Figura 2) (BRASIL, 2010).

Até uma ou duas décadas atrás esta zoonose acometia indivíduos com condições socioeconômicas reduzidas, residentes em áreas rurais ou semi-áridas do nordeste, que contava com cerca de 90% dos casos notificados no país (ALVAR et al., 2006). Com o passar dos anos, os casos que se concentravam principalmente no nordeste passaram a ser notificados mais frequentemente nas regiões norte, centro-oeste e sudeste do Brasil, com uma expansão da doença observada em quase todo o território brasileiro, principalmente em municípios com crescente urbanização e alto índice de pobreza (CESSE et al., 2001; CERBINO-NETO et al., 2009).



**Figura 1.** Distribuição do número de casos de leishmaniose visceral em humanos no Brasil, de acordo com o ano de referência, segundo dados da Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), do Ministério da Saúde (MS).



**Figura 2.** Mapa de estratificação de leishmaniose visceral de acordo com o município de residência e média de casos, de 2008 a 2010, segundo os dados da Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), do Ministério da Saúde (MS). BRASIL, 2012e.

Atualmente, chama a atenção o crescente número de casos de LV humana em grandes centros urbanos, tais como as cidades de Araguaína (TO), Aracajú (SE), Araçatuba (SP), Bauru, Belo Horizonte (MG), Campo Grande (MS), Cuiabá (MT), Fortaleza, Palmas (TO), Petrolina (PE), Recife (PE) e Teresina (PI) (BRASIL, 2012e).

Com a dispersão da doença, a região nordeste, que concentrava 92,9% dos casos de LV em 1999, passou a apresentar 47,8% dos casos em 2011. Já a região sudeste, que possuía 2,6% dos casos em 1999, elevou seus níveis de prevalência, contando, em 2011, com 15% dos casos do Brasil (BRASIL, 2012a; BRASIL, 2012b).

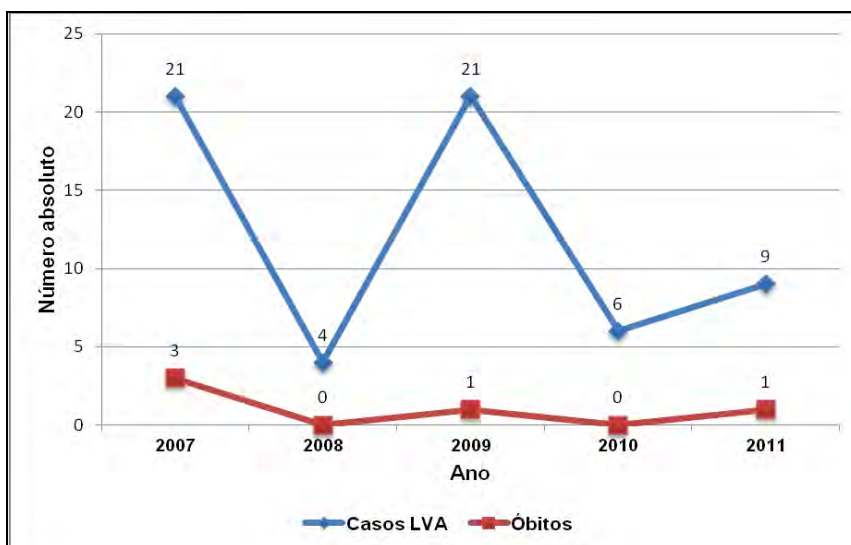
Até o ano 2000 a Bahia era o estado com maior número de casos humanos notificados (BRASIL, 2012e) e, embora a incidência tenha diminuído na última década, a subnotificação e a falta de recursos para tratamento adequado desses pacientes ainda são descritas em alguns municípios (OLIVEIRA; ARAÚJO, 2003). De 2007 a 2011 cerca de 1.712 casos de LV foram relatados no estado, dos quais 78 vieram à óbito (BRASIL, 2012a; BRASIL, 2012e). Somente em 2011, 402

pessoas foram infectadas pelo parasita, culminando com 16 (3,98 %) óbitos (BRASIL, 2012e).

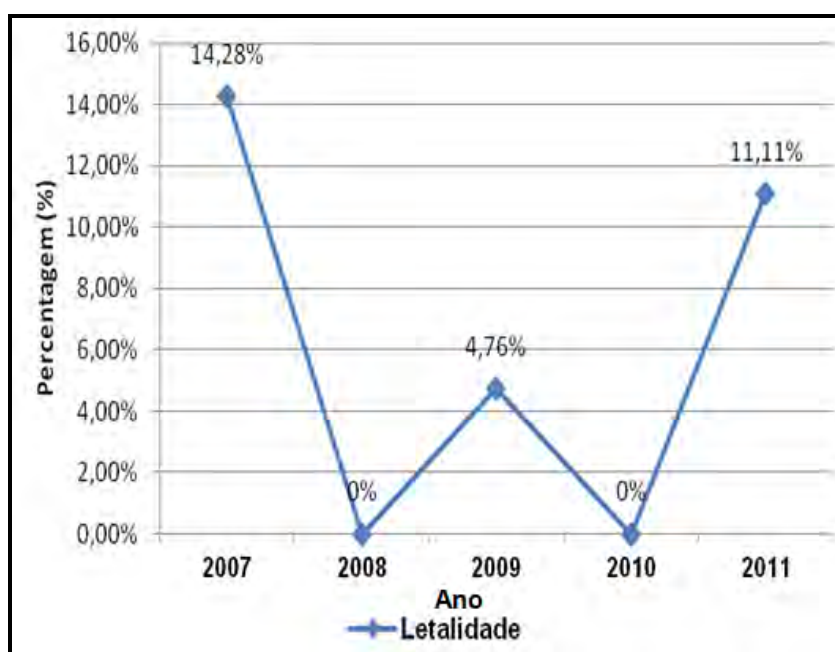
Inicialmente os casos de LV concentravam-se na região central da Bahia, mas nos últimos anos a doença se expandiu para as zonas costeira, oeste, nordeste e norte (OLIVEIRA ; ARAÚJO, 2003; CARNEIRO et al., 2007; FRAGA et al., 2012), com registros de casos humanos principalmente nos municípios de Camaçari (JULIÃO et al., 2007), Feira de Santana (OLIVEIRA ; ARAÚJO, 2003; MARTINS et al., 2007), Jacobina (BRASIL, 2012e), Jequié (FRAGA et al., 2012), Juazeiro (BRASIL, 2012e), Salinas da Margarida (JULIÃO, 2011) e Salvador, entre outros (BRASIL, 2012e). Atualmente, mais de 52% dos municípios baianos já notificaram casos de LV (BRASIL, 2012e).

A cidade de Juazeiro localiza-se na região semiárida do extremo norte da Bahia e é considerada um município com transmissão intensa da LV, sendo incluída como uma das regiões prioritárias para as ações de vigilância e controle da enfermidade (BRASIL, 2010). Nos últimos cinco anos foram notificados 61 casos de LV no município, dos quais cinco (8,06%) vieram a óbito (Figura 3) (BRASIL, 2012e).

De acordo com os dados da Secretaria de Vigilância e Saúde, não foram registrados óbitos no ano de 2010; contudo, em 2011 a taxa de letalidade da doença elevou-se para 11,1% no município de Juazeiro (Figura 4) (BRASIL, 2012e). Entre os anos de 2007 e 2011 a incidência média da doença na região foi de 5,2 casos /100.000 habitantes, com valores da ordem de 3,5 no ano de 2011 (BRASIL, 2012b). Independente do sexo, a maior parte dos indivíduos acometidos possui de um a quatro anos, ou de 20 a 34 anos de idade, e ensino fundamental incompleto (BRASIL, 2012e).



**Figura 3.** Número absoluto de casos e de óbitos de pacientes com leishmaniose visceral, de acordo com o ano de referência, no município de Juazeiro – BA, segundo dados da Secretaria de Vigilância e Saúde (SVS) do Ministério da Saúde.



**Figura 4.** Taxa de letalidade da leishmaniose visceral, de acordo com o ano de referência, no município de Juazeiro – BA, segundo dados da Secretaria de Vigilância e Saúde (SVS) do Ministério da Saúde.

### 2.3 Etiopatogenia da leishmaniose visceral

Leishmanias apresentam-se sob as formas amastigota ou promastigota, na dependência do hospedeiro parasitado (MICHALICK ; GENARO, 2007; BANETH ; SOLLANO-GALLEGO, 2012). As formas amastigotas são encontradas no interior de células mononucleares do sistema fagocítico de diversos tecidos de hospedeiros vertebrados, tais como os seres humanos, animais domésticos ou animais silvestres (MÁRTIN-SÁNCHEZ et al., 2007; MICHALICK ; GENARO, 2007). Estas são reconhecidas por sua forma esférica a ovóide, sem flagelo livre, medindo entre 2-5µm, além de conter um núcleo arredondado e um cinetoplasto alongado em forma de bastão próximo ao núcleo (BRASIL, 2006; MICHALICK ; GENARO, 2007). Já as formas promastigotas são extracelulares e encontram-se no tubo digestório de fêmeas de hospedeiros invertebrados, como os flebotomíneos. Possuem forma alongada, com flagelo livre, medindo aproximadamente 15-20µm. Na região central da célula observa-se um núcleo ovóide ou esférico e um cinetoplasto situado entre a região anterior da célula e o núcleo (BRASIL, 2006; MICHALICK ; GENARO, 2007).

O principal mecanismo de transmissão ocorre quando as fêmeas de flebotomíneos, infectadas com formas promastigotas, alimentam-se em hospedeiros susceptíveis. Durante o repasto sanguíneo estas formas são inoculadas na pele, gerando resposta inflamatória local, com subsequente fagocitose por células do sistema mononuclear fagocitário, principalmente os macrófagos. No interior dos macrófagos as promastigotas perdem o flagelo e diferenciam-se em amastigotas, que se multiplicam por sucessivas divisões binárias. As células densamente parasitadas rompem-se, liberando estas formas que serão fagocitadas por novos macrófagos. Ocorre, então, a disseminação hematogênica e linfática para tecidos ricos em células do sistema mononuclear fagocitário, tais como linfonodos, medula óssea, baço e fígado (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2012). Além destes tecidos, outros órgãos e estruturas, tais como os rins, as articulações e os músculos, podem apresentar o parasita (SILVA et al., 2007; BANETH et al., 2008).

O ciclo biológico continua quando as fêmeas de flebotomíneos, ao sugarem o sangue de mamíferos infectados, ingerem macrófagos parasitados por formas amastigotas de *Leishmania* sp. Após cerca de 72 horas as amastigotas transformam-se em promastigotas infectantes no trato digestório do inseto, sendo

eliminadas pela saliva durante o próximo repasto sanguíneo (BANETH; SOLANO-GALLEGU, 2012; MICHALICK ; GENARO, 2007).

Durante a infecção, as células apresentadoras de antígenos, pertencentes ao sistema mononuclear fagocítico, estimulam a proliferação de linfócitos T (CD4+) auxiliares do Tipo 1 (Ta1) ou auxiliares do Tipo 2 (Ta2) (BARBIERI et al., 2006; MACHADO et al., 2007a). As células Ta1, ativadas pela IL-12, produzem citocinas pró-inflamatórias, tais como o fator de necrose tumoral (TNF), interleucinas IL-2, IL-3 e IL12, e o interferon gama (IFN- $\gamma$ ), que aumentam a eficiência das células fagocíticas e de linfócitos citotóxicos. O IFN- $\gamma$  é um potente indutor da formação de superóxido e óxido nítrico pelos macrófagos, favorecendo o controle do parasitismo com a eliminação da infecção (PINELLI et al., 1994; CIARAMELLA; CORONA, 2003; BARBIÉRI, 2006).

Por outro lado, se houver a ativação de linfócitos Ta2, ocorrerá a produção de IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13, com consequente proliferação de células B e produção exagerada de imunoglobulinas, desencadeando a formação e deposição de imunocomplexos circulantes, os quais resultam em danos teciduais. Desta forma, os animais que apresentam sinais clínicos da doença desenvolvem uma resposta imunológica predominantemente humoral que, além de não ser protetora, é ainda deletéria ao organismo (BARBIÉRI, 2006).

## 2.4 Vetor da leishmaniose visceral

No Brasil, o principal vetor da LV é *Lutzomyia longipalpis* (LUTZ; NEIVA, 1912), pertencente à Classe Diptera, gênero Psychodidae e subfamília Phlebotominae. Contudo, alguns autores descreveram *Lutzomyia cruzi*, espécie que pode fazer parte do complexo *Lutzomyia longipalpis* (BAUZER et al., 2007), como um importante vetor da LV no Mato Grosso do Sul (PITA-PEREIRA et al., 2008). *Lutzomyia forattinii* também foi incriminado como possível hospedeiro invertebrado de *L. infantum chagasi* em Corumbá (MS) (PITA-PEREIRA et al., 2008), assim como de *Lutzomyia intermedia*, *Lutzomyia whitmani*, *Lutzomyia migonei* e *Lutzomyia firmatoi*, descritos em outras regiões endêmicas do país (DIAS-LIMA et al., 2003; DANTAS-TORRES et al., 2010).

Mesmo com a dispersão dos flebotomíneos para quase todas as regiões do Brasil (BRASIL, 2006; DANTAS-TORRES et al., 2010), em algumas áreas endêmicas o inseto ainda não foi detectado (CARVALHO et al., 2007).

Os flebotomíneos são insetos pequenos, de um a três milímetros, de coloração parda a amarelada, com o corpo revestido de pêlos. Quando em repouso, permanecem com suas asas semi-abertas e eretas, com alcance de vôos curtos (KILLICK-KENDRICK, 1990). Esses hospedeiros invertebrados e suas formas imaturas são identificados preferencialmente na região peridomiciliar, em áreas com abrigo de animais, lixo, matéria orgânica em decomposição e pedras, (FELICIANGELI, 2004). Entretanto, em áreas urbanizadas é frequente encontrá-los no interior das residências durante o período crepuscular (BRASIL, 2006; KESARI et al., 2010; COSTA, 2011).

Os vetores realizam oviposição e desenvolvimento larval em áreas úmidas, com sombreamento, e ricas em matéria orgânica (KILLICK-KENDRICK, 1990; FELICIANGELI, 2004; BRASIL, 2006). Contudo, o desenvolvimento das formas imaturas também pode ser observado em ecossistemas aparentemente hostis, como por exemplo, em áreas desmatadas e regiões semi-áridas (DIAS-LIMA et al., 2003). Isto ocorre porque o flebotomíneo dispõe de características peculiares, tais como a presença de pequenos poros em seus ovos e a proximidade do mesmo ao córion, o que impede a desidratação e lhes permite sobreviver em ambientes secos (FELICIANGELI et al., 1993), embora em menor densidade (DIAS-LIMA et al., 2003).

No que concerne à alimentação, os machos e fêmeas de *Lutzomyia longipalpis* alimentam-se de seiva e néctar de plantas, além de frutas maduras (BRASIL, 2006). Entretanto, as fêmeas também alimentam-se de sangue de diversas, como de seres humanos, cães, gatos, cavalos, jumentos, cabras, bois, porcos, galinhas e animais silvestres (QUINNELL et al., 1992; CAMARGO-NEVES et al., 2001; PASSOS-DIAS et al., 2003; MISSAWA et al., 2008, COSTA, 2011). Muitas vezes, a preferência alimentar do flebotomíneo é determinada pela acessibilidade, abundância, tamanho e biomassa do hospedeiro (QUINNELL et al., 1992; BERN et al., 2010; OTRANTO et al., 2010).

Alguns estudos incriminam *Lutzomyia longipalpis* como antropofílico, principalmente em áreas endêmicas para a doença (QUINNELL et al., 1992; RANGEL; VILELA, 2008). Ao avaliarem o hábito alimentar de *Lutzomyia longipalpis*

em seres humanos, cães e galinhas, Quinnell et al. (1992) observaram a preferência dos vetores pelos primeiros. No entanto, Sherlock (1996) observou uma baixa antropofilia de *Lutzomyia longipalpis*, semelhante ao descrito por Camargo-Neves et al. (2001). Segundo os autores, a preferência alimentar de *Lutzomyia longipalpis* foi maior pelo sangue de cães, quando comparado com o de seres humanos ou outros animais.

Missawa et al. (2008) constataram que 30,8% dos flebotomíneos avaliados alimentaram-se preferencialmente por sangue de aves, 21,2% de roedores e 13,5% de sangue humano e, em menor proporção, em amostras sanguíneas de gambás, bois, cavalos e cães, corroborando os relatos de Afonso et al. (2012).

O hábito alimentar dos flebotomíneos auxilia na identificação de possíveis reservatórios da LV (CAMARGO-NEVES et al., 2001; AFONSO et al., 2012). Essa diversificação alimentar por parte dos flebotomíneos reforça a idéia de que, com o desmatamento e deslocamento populacional para a periferia de grandes centros urbanos, a disponibilidade de animais silvestres como fonte alimentar torna-se cada vez mais difícil, propiciando a rápida adaptação do vetor ao ambiente, que busca fontes alternativas de alimentação (FELIPE et al., 2011; AFONSO et al., 2012).

## **2.5 Reservatórios e hospedeiros domésticos da leishmaniose visceral**

### **2.5.1 Cães**

Até o presente momento, de todos os animais identificados como reservatórios da LV, o cão, do ponto de vista epidemiológico, é considerado o reservatório doméstico mais importante (BANETH et al., 2008; BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2012). Isto se deve provavelmente ao contato direto desses animais com os seres humanos, bem como ao frequente parasitismo cutâneo observado em cães com ou sem sinais clínicos da doença (LAURENTI et al., 2009). Estima-se que aproximadamente 2,5 milhões de cães na região sudoeste da Europa estejam infectados, e que na América do Sul o número de cães infectados também esteja na casa dos milhões, com as maiores taxas de infecção em países como o Brasil e a Venezuela (BANETH et al., 2008; BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2012).

Estudos pretéritos sugerem que a ocorrência de leishmaniose visceral canina precede ou está correlacionada com a infecção em seres humanos (OLIVEIRA et al., 2001; PRADO et al., 2011). No Brasil, a prevalência da enfermidade canina varia de 4% a 75%, dependendo da região avaliada e do método de diagnóstico utilizado (CAMARGO-NEVES et al., 2001; DANTAS-TORRES et al., 2006; CAMARGO-NEVES, 2007; ALMEIDA et al., 2010; BARBOSA et al., 2010; SILVA et al., 2010; COURA-VITAL et al., 2011; FELIPE et al., 2011; BIGELI et al., 2012; SILVEIRA et al., 2012).

A alta prevalência de cães assintomáticos sugere que estes animais mantêm o ciclo de transmissão da LV na mesma proporção, ou até em proporção superior aos cães sintomáticos (DANTAS-TORRES et al., 2006; LAURENTI et al., 2009; BARBOSA et al., 2010; SILVEIRA et al., 2012). Segundo Laurenti et al. (2009), por meio da técnica de xenodiagnóstico, o parasita foi encontrado em 42% e 27% das fêmeas de *Lutzomyia longipalpis* alimentadas em cães sem e com sinais clínicos de leishmaniose visceral, respectivamente. De acordo Guarga et al. (2000), uma das explicações para este fato é a de que o tecido cutâneo saudável, de cães assintomáticos, é mais atrativo às fêmeas do flebotomíneo, uma vez que, com a progressão da doença e a deterioração da pele, a atração diminui. O desenvolvimento de sinais clínicos inespecíficos e, muitas vezes, tardios contribui para o sub-diagnóstico da doença e transmissão do parasita no ambiente doméstico (OLIVEIRA et al., 2001; LOPES et al., 2010).

O uso de técnicas moleculares para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina (LVC), particularmente em animais soronegativos, permitiu confirmar que quando as condições são favoráveis para a transmissão da doença (tais como altas densidades de animais e de flebotomíneos) a infecção se dissemina rapidamente pela população canina. Mesmo com a disseminação da infecção em áreas endêmicas nem todos os cães infectados desenvolvem a doença. Esses conceitos demonstram que os casos clínicos de LVC são apenas o topo do iceberg em áreas endêmicas, uma vez que a maioria da população está exposta e torna-se infectada sem apresentar evidências clínicas da doença ou anticorpos anti-*Leishmania* sp (BANETH et al., 2008). Um estudo com 100 cães na Ilha de Mallorca, Espanha, indicou que 13% dos animais apresentavam sinais clínicos da doença, 26% eram

sororreagentes e 63% apresentavam DNA de *Leishmania* quando testados por PCR (SOLANO-GALLEGO et al., 2001; BANETH et al., 2008).

Características individuais ou biológicas, tais como a idade e o sexo, podem ser um fator de risco para a infecção por *Leishmania* sp. em cães. Contudo, diversos estudos não puderam comprovar uma predisposição sexual para a doença canina (FRANÇA-SILVA et al., 2003; AZEVEDO et al., 2008; ALMEIDA et al., 2010; SILVA et al., 2010; COURA-VITAL et al., 2011; SHANG et al., 2011; CORTES et al., 2012; SILVEIRA et al., 2012), contrapondo-se a outros ensaios que verificaram maior predisposição em machos (DANTAS-TORRES et al., 2006; JULIÃO et al., 2007; MIRANDA et al., 2008).

A LV pode acometer animais de qualquer idade, entretanto, a enfermidade em cães caracteriza-se por ocorrer de forma bimodal. O primeiro pico pode ocorrer em animais com faixa etária menor que três anos, e o segundo ocorre entre oito e dez anos de idade (PALTRINIERI et al., 2010). Provavelmente o desenvolvimento da doença na idade precoce está relacionado a predisposição genética levando a uma resposta imunológica deficiente, enquanto o segundo pico pode refletir uma infecção precoce em um momento em que o animal apresentava resposta imune predominantemente celular, que foi alterada com a idade, geralmente devido à ocorrência de comorbidades. Outra explicação seria a de que a infectividade em cães adultos ou mais velhos esteja associada ao maior tempo de exposição aos vetores (ZIVICNJAK et al., 2005; SHANG et al., 2011).

Dantas-Torres (2006), em um estudo realizado em Pernambuco, concluiu que cães jovens, com idade inferior a um ano, possuem alto risco de infecção por *L. infantum chagasi*. O estado imunológico ainda imaturo do animal, associado às condições ambientais, pode ser um fator determinante. Além disso, em áreas endêmicas ocorre a reposição de cães submetidos à eutanásia, ou que vieram a óbito, por animais jovens, o que torna a população canina mais susceptível a diversas enfermidades infecciosas, dentre elas a LV (ANDRADE et al., 2007).

No que concerne ao tamanho do animal, acredita-se que os cães de raças grandes e gigantes são mais susceptíveis a enfermidade por apresentarem maior superfície corporal, o que os torna mais vulneráveis à picada dos flebotomíneos (GÁLVEZ et al., 2010).

Quanto ao padrão racial, teoricamente cães de qualquer raça podem ser acometidos por LV, contudo, parece existir uma predisposição em cães das raças Boxer, Rottweiler, Cocker Spaniel e Pastor Alemão (FRANÇA-SILVA et al., 2003; MIRANDA et al., 2008; BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2012). Além disso, cães da raça Ibizaian Hound apresentam uma resposta predominantemente celular contra o parasita, sendo mais resistentes ao desenvolvimento de sinais clínicos da doença (SOLANO-GALLEGO et al., 2000).

### **2.5.2. Gatos**

O primeiro caso de leishmaniose felina foi relatado na Argélia em 1912, onde um animal de quatro meses de idade residia na mesma casa que um cão e uma criança, ambos portadores de leishmaniose visceral (SERGENT et al., 2012). A partir dessa data, diversos países, tais como Brasil (COSTA et al., 2010; NETO et al., 2011; VIDES et al., 2011; SOBRINHO et al., 2012), Espanha (PORTÚS et al., 2002; MAROLI et al., 2007; SOLANO-GALLEGO et al., 2007; AYLLON et al., 2008; SHERRY et al., 2011), França (GREVOT et al., 2005), Itália (POLI et al., 2002; PENNISI et al., 2004; VITA et al., 2005), Irã (HATAM et al., 2009; SARKARI et al., 2009); Jerusalén (NASEREDDIN et al., 2008), Portugal (CARDOSO et al., 2010), identificaram gatos infectados pelo parasita.

Nos últimos anos, as pesquisas em áreas endêmicas demonstraram que essa espécie animal é capaz de se infectar e desenvolver sinais clínicos da doença (VIDES et al., 2011; SOBRINHO et al., 2012); contudo, acredita-se que os felinos infectados possuam certo grau de resistência natural à enfermidade (SOLANO-GALLEGO et al., 2007).

Estudos epidemiológicos identificaram valores de prevalência bastante variáveis na leishmaniose visceral felina, da ordem de 16,3% na Itália (VITA et al., 2005), 6,29% e 60% na Espanha (MÁRTÍN-SANCHEZ et al., 2007; SOLANO-GALLEGO et al., 2007), 6,7% em Jerusalém (AYLLON et al., 2008), 25% no Irã (SARKARI et al., 2009) e cerca de 4 a 28% no Brasil (COSTA et al., 2010; SOBRINHO et al., 2012).

Existem discrepâncias no que diz respeito à predisposição sexual na leishmaniose visceral felina. Enquanto alguns autores afirmam que a doença é mais

prevalente em machos, provavelmente pelo acesso frequente às ruas (CARDOSO et al., 2010; VIDES et al., 2011; SOBRINHO et al., 2012), outros não verificaram tal predisposição (NASEREDDIN et al., 2008 e SHERRY et al., 2011). A doença pode acometer gatos de três meses a 16 anos, mas de acordo com Cardoso et al. (2010), costuma ser mais frequente em gatos com idade superior a dois anos. No entanto, outros estudos ressaltam ausência de predisposição etária na leishmaniose visceral felina (SOLANO-GALLEGO et al., 2007; NASEREDDIN et al., 2008; SOBRINHO et al., 2012).

No que concerne ao papel do gato como reservatório da doença, sugere-se que os felinos podem atuar como reservatórios secundários da LV (GRAMICCIA ; GRADONNI, 2005; SOLANO-GALLEGO et al., 2007). Maroli et al. (2007) verificaram, por meio de xenodiagnóstico, que um gato cronicamente infectado por *L. infantum* foi capaz de infectar o vetor, com taxas de repasto sanguíneo e infecção semelhantes às observadas em cães. De forma semelhante, Silva et al. (2010) descreveram a primeira infecção de *Lutzomyia longipalpis* por *L. infantum chagasi* em um gato naturalmente infectado no Brasil, sugerindo a participação desta espécie animal no ciclo epidemiológico da LV.

### **2.5.3 Outras espécies de animais domésticos**

A elucidação do papel dos animais no ciclo da LV é crucial para o delineamento de programas de controle da doença. A atual estratégia de controle baseia-se no diagnóstico precoce e tratamento de seres humanos, no controle de vetores e na eutanásia de cães infectados (BRASIL, 2006). Entretanto, tais medidas podem não ser suficientes se outras espécies animais apresentarem também importância epidemiológica.

Estudos prévios realizados na tentativa de identificar outras espécies animais que participam do ciclo epidemiológico da LV apresentam resultados controversos (BERN et al., 2000; MUKHTAR et al., 2000; BHATTARAI et al., 2010).

Apesar de pouco frequente, existem descrições de equinos infectados por *L. infantum* (KOEHLER et al., 2002; ROLÃO et al., 2005), mas o papel desses herbívoros na transmissão das leishmanioses, quer como fonte de alimentação para

os vetores ou como participante do ciclo epidemiológico da doença, ainda não está totalmente esclarecido (CERQUEIRA et al., 2003; KOUAM et al., 2010).

Embora os equídeos infectados experimentalmente realizem soroconversão e mantenham formas amastigotas do parasita no fígado, estes não desenvolvem sinais clínicos e nem são infectivos ao flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis*, quando submetidos ao xenodiagnóstico (CERQUEIRA et al., 2003). Fernández-Bellon et al. (2006) e Feitosa et al. (2013) detectaram sororreatividade ao protozoário da leishmaniose visceral em 14,3% (16/112) e 14,59% (68/466), respectivamente, dos cavalos avaliados provenientes de áreas endêmicas para a doença. *Leishmania infantum* também tem sido relatada como agente causador de leishmaniose cutânea em cavalos em vários países europeus, tais como Portugal (ROLÃO et al., 2005) e Alemanha (KOEHLER et al., 2002).

Muller et al. (2009), identificaram nove equinos com lesões cutâneas provavelmente infectados com uma nova cepa ou uma nova espécie de *Leishmania* na Europa central, *L. siamensis*. Reuss et al. (2012) identificaram o mesmo agente em cavalos provenientes da Flórida (EUA), ressaltando a importância dos equinos na transmissão zoonótica da leishmaniose.

*Leishmaia siamensis* também foi identificada em vacas provenientes da Suíça (LOBSIGER et al., 2010) e a participação desta espécie animal como reservatório da doença foi observada em estudos pretéritos (MUKHTAR et al., 2000; BHATTARAI et al., 2010; KHANAL et al., 2010; SINGH et al., 2013).

No que tange às cabras, a prevalência da doença nesses animais pode chegar a 27% em algumas regiões endêmicas; entretanto, da mesma forma que os outros animais, sua participação no ciclo epidemiológico da doença, quer como fonte de alimentação para os vetores ou como reservatório da enfermidade, ainda não foi completamente esclarecido (MUKHTAR et al., 2000; KHANAL et al., 2010; SINGH et al., 2013). Mutinga et al. (1989), avaliando caprinos no Quênia, demonstraram que estes são hospedeiros de *L. donovani*, uma vez que identificaram formas amastigotas do parasita em baço, fígado, linfonodos, conduto auditivo e vulva de animais naturalmente infectados. Ademais, os autores reproduziram experimentalmente a infecção em caprinos sadios.

No Brasil poucos estudos foram realizados avaliando a participação de animais de produção na epidemiologia da leishmaniose visceral. Recentemente na

Bahia, Julião (2011) investigou a participação de bovinos, caprinos, equinos e ovinos como reservatórios da doença. Nas espécies avaliadas foi possível amplificar o DNA do parasita no sangue periférico de 25% (5/20) do gado.

O papel das aves, particularmente das galinhas (*Gallus gallus*), na cadeia epidemiológica da LV ainda não está totalmente elucidado. Apesar dessas aves possuírem a capacidade de atrair o vetor *Lutzomyia longipalpis*, elas não são capazes de manter a infecção (ALEXANDER et al., 2002; OTRANTO et al., 2010), provavelmente pela elevada temperatura corporal (ALEXANDER et al., 2002). Outrossim, as galinhas são importantes na manutenção da população de vetores no ambiente (ALEXANDER et al., 2002; OTRANTO et al., 2010). Apesar do sangue desses animais ser menos nutritivo do que o de mamíferos, influenciando a produtividade de ovos e, portanto, a população de flebotomíneos, essa desvantagem parece ser compensada pela maior facilidade que o flebotomíneo tem de se alimentar nas aves (ALEXANDER et al., 2002), verificando-se a elevada quantidade de vetores em áreas com grande densidade populacional de galinhas (FERNÁNDEZ et al., 2010). Desta forma, esses animais atuam como chamariz ou isca para atrair *L. longipalpis*, mantendo-os na região peridomiciliar (ARAÚJO et al., 2000; PASSOS-DIAS et al., 2003; LAINSON ; RANGEL, 2005).

## **2.6 Diagnóstico de leishmaniose visceral**

O diagnóstico da LV pode ser firmado por métodos parasitológicos, sorológicos e moleculares (GONTIJO ; MELO, 2004; MANNA et al., 2004; FRANCINO et al., 2006; FERNÁNDEZ-BELLON, 2006; ZANETTE, 2006; MOREIRA et al., 2007; MIRÓ et al., 2008).

### **2.6.1. Métodos parasitológicos**

O método parasitológico direto consiste em identificar formas amastigotas de *Leishmania* sp. em esfregaços obtidos a partir da citologia aspirativa de órgãos linfóides, tais como baço, fígado, linfonodos e medula óssea (IKEDA-GARCIA; FEITOSA, 2006; MOREIRA et al., 2007). Esta técnica é simples, pouco invasiva,

com 100% de especificidade; entretanto, sua sensibilidade depende do grau de parasitemia, do tipo de material biológico colhido, do tempo de evolução da doença e da experiência do profissional que vai fazer a leitura das lâminas (IKEDA-GARCIA; FEITOSA, 2006; LAURENTI, 2009).

Em animais assintomáticos ou em tecidos pouco parasitados, o exame parasitológico direto pode propiciar um resultado falso negativo ou inconclusivo, uma vez que poucas formas amastigotas são observadas (BRASIL, 2006; LAURENTI, 2009). Isso pode ser solucionado com a utilização da técnica de imuno-histoquímica ou imunocitoquímica, que são meios de diagnóstico mais sensíveis, porém exigem mais tempo na sua elaboração (TAFURI et al., 2004; MOREIRA et al., 2007; LAURENTI, 2009).

### **2.6.2. Métodos Sorológicos**

O diagnóstico de LV por meio de técnicas sorológicas está padronizado para cães e gatos, com poucos estudos em outras espécies animais (PALTRINIERI et al., 2010; VIDES et al., 2011). Em cães com LV a soroconversão ocorre, em média, cinco meses após a infecção. Entretanto, pode ocorrer entre um e 22 meses (PALTRINIERI et al., 2010). Os testes sorológicos devem ser interpretados com cautela, uma vez que não são 100% sensíveis e falham em detectar cães infectados assintomáticos, que possuem uma resposta imune predominantemente celular (IKEDA-GARCIA; FEITOSA, 2006).

Os títulos de anticorpos anti-*Leishmania* sp., obtidos por meio de exames sorológicos, nem sempre estão associados com a severidade dos sinais clínicos e devem ser interpretados com cautela. Títulos baixos geralmente são observados em cães assintomáticos infectados, cães provenientes de áreas endêmicas e expostos ao parasita (PALTRINIERI et al., 2010), ou naqueles que apresentam reação cruzada com outros agentes infecciosos (ZANETTE, 2006). Inversamente, um título de anticorpos elevado, isto é, de duas a quatro vezes acima do ponto de corte da reação, irá confirmar a presença da doença (PALTRINIERI et al., 2010). Em cães com idade inferior a três meses não se deve realizar a sorologia, uma vez que a presença de anticorpos circulantes maternos podem propiciar resultados falso-positivos (BRAGA et al., 1998).

A pesquisa de anticorpos anti-*Leishmania* sp. no soro pode ser realizada por diferentes técnicas sorológicas tais como a Imunofluorescência indireta (RIFI), o ensaio imunoenzimático (ELISA) indireto, a imunocromatografia, a hemaglutinação indireta, a imunofixação em gel, o western blot e a aglutinação direta (GONTIJO ; MELO, 2004; METTLER et al., 2005; MAIA ; CAMPINO, 2008; LAURENTI, 2009; SOLANO-GALLEG0 et al., 2009; MARCONDES et al., 2011).

Até meados de novembro de 2011, os métodos de diagnóstico sorológico recomendados pelo Ministério da Saúde (MS) para a rotina e inquéritos epidemiológicos em municípios com registro de LV eram o ELISA e a RIFI. Contudo, esses métodos estão sendo substituídos gradualmente pela utilização de um teste rápido de imunocromatografia (DPP® - Bio-Manguinhos/Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil) como técnica de triagem e pelo ELISA como teste confirmatório da doença (BRASIL, 2011b).

A RIFI utiliza como antígeno promastigotas de *leishmania*, apresentando sensibilidade que varia entre 87 e 100% e especificidade de 80% a 100% (MACHADO et al., 2007b; METTLER et al., 2005; ZANETTE, 2006). Quanto ao ponto de corte da reação, o mesmo pode variar de acordo com o laboratório. De maneira geral, considera-se positivo um animal com título igual ou superior a 1:40; entretanto, alguns laboratórios utilizam como ponto de corte da reação valores iguais ou superiores a 1:80 (BRASIL, 2006; SOLANO-GALLEG0 et al., 2009; PALTRINIERI et al., 2010).

A RIFI possui a desvantagem de que, quando da análise de um grande número de amostras, o tempo despendido pelo profissional para a leitura das lâminas é muito grande, além de apresentar reação cruzada com o *Trypanossoma cruzi* (ZANETTE, 2006). Segundo Zanette et al.( 2008a), 42,9% (6/14) das amostras sorológicas de cães infectados por *Trypanossoma cruzi* apresentaram reação cruzada, quando testadas por meio da técnica de RIFI para a pesquisa de anticorpos anti-*Leishmania* sp. Esses dois tripanossomatídeos apresentam semelhanças filogenéticas entre si (LEMESTRE et al., 1986), o que pode induzir à dados epidemiológicos distorcidos em áreas endêmicas onde as doenças se sobrepõem (ZANETTE, 2006; MIRÓ et al., 2008).

O método de ELISA é de fácil execução, leitura rápida, valor acessível e permite a realização de um número maior de amostras, além de fornecer resultados

automatizados, o que elimina a subjetividade na leitura (BRASIL, 2011). A sensibilidade e especificidade da técnica podem variar entre 92 e 100% e entre 71 e 100%, respectivamente, na dependência do antígeno utilizado (REITHINGER et al., 2002; METTLER et al., 2005; ZANETTE et al., 2006; MOREIRA et al., 2007; MIRÓ et al., 2008; SILVA et al., 2012). As técnicas que utilizam antígenos totais são limitadas em termos de especificidade, apresentando reações cruzadas não somente com outras espécies da família Trypanosomatidae, mas também com outros organismos filogeneticamente distantes, como a *Ehrlichia canis* (ZANETTE et al., 2008b).

A utilização de antígenos recombinantes ou purificados, como as glicoproteínas de membrana gp63, gp72 e gp70 específicas do gênero *Leishmania*, melhoram a sensibilidade e a especificidade da técnica de ELISA; entretanto, ainda assim podem ocorrer reações cruzadas com outros tripanossomatídeos. Alguns antígenos recombinantes como o rK39, rK9 e rK26 parecem conferir grande sensibilidade quando da realização do teste sorológico (ROSÁRIO et al., 2005; IKEDA-GARCIA; FEITOSA, 2006; SILVA et al., 2012) .

Porrozzi et al. (2007), em um estudo comparando a utilização da técnica de ELISA com antígeno recombinante (rK39) e com antígeno bruto em uma população de cães com e sem sinais clínicos da doença, verificaram uma maior sensibilidade do rK39 para a detecção de cães sintomáticos (94%) quando comparado ao antígeno bruto (88%). Por outro lado, em cães assintomáticos os testes empregando antígeno recombinante e bruto apresentaram sensibilidade de 66% e 30%, respectivamente.

A resposta imunológica humoral dos gatos frente a uma infecção por *L. infantum chagasi* parece ser pequena, evidenciada por uma menor produção de anticorpos séricos quando comparada com os cães. Provavelmente a imunidade celular seja mais eficaz no controle da infecção, explicando a presença de um maior número de animais assintomáticos em relação aos que desenvolvem quadro clínico da doença (SOLANO-GALLEGO et al., 2007). Por essa razão, vários estudos têm sido realizados na tentativa de padronizar a melhor técnica para identificar gatos infectados por meio de sorologia (SOLANO-GALLEGO et al., 2007; COSTA et al., 2010; SOBRINHO, 2010).

Neto et al. (2011) pesquisaram, na mesma população de gatos, a presença de anticorpos anti-*Leishmania* sp. utilizando como antígenos um lisado de

promastigotas de *L. chagasi*, o antígeno recombinante rK39 e o antígeno purificado FML (fração ligante de fucose manose). Segundo os autores, a soroprevalência foi detectada em 23% das amostras submetidas ao teste de ELISA–antígeno total, 15,9% pelo ELISA-rK39 e 13,3% pelo ELISA-FML.

Semelhante ao que ocorre em cães, a sensibilidade e especificidade dos métodos sorológicos para diagnóstico de LV em gatos podem variar de acordo com o anticorpo e cromógeno utilizados. Enquanto Costa (2008) verificou valores de sensibilidade e especificidade da técnica de ELISA da ordem de 12,5% e 65,4% respectivamente, ao utilizar a proteína A com o cromógeno OPD (ortofenilenediamina); ao utilizar IgG e o cromógeno TMB, os valores de sensibilidade e especificidade passaram a ser, respectivamente, 25% e 19,2%. Sobrinho (2010) descreve valores de sensibilidade da ordem de 56% e 55% e de especificidade de 89% e 90%, para o ELISA utilizando proteína A e o ELISA utilizando IgG, respectivamente, ambos com o cromógeno TMB. De acordo com a autora, o TMB é o cromógeno mais sensível para a leitura da reação (SOBRINHO, 2010).

Ao pesquisarem anticorpos anti-*Leishmania* sp., por meio de ELISA, no soro de equinos naturalmente infectados e assintomáticos, Fernández-Bellon et al. (2006), observaram que 14,28% (16/112) dos animais apresentam soroconversão quando foram utilizadas concentrações de soro e do conjugado anti-proteína A superiores às normalmente utilizadas no soro de cães. Quando o conjugado utilizado foi anticorpo anti-IgG, nenhuma amostra sorológica apresentou sororreatividade. Segundo os autores, isso se deveu ao fato da resposta humoral de equinos divergir da observada em cães, sendo, provavelmente, de menor intensidade. Em contraste, mais de dois terços dos equinos apresentaram uma resposta imune celular, observada por meio da técnica de proliferação linfocitária para antígenos anti-*L. infantum*, similar ao descrito em cães assintomáticos e em seres humanos infectados pelo parasita (ASHFORD, 2000).

Os testes comerciais de imunocromatografia utilizam como antígeno o rK39 e têm sido úteis no diagnóstico de LV tanto em seres humanos quanto em cães. Suas vantagens são simplicidade de uso e rápida resposta (cerca de 10 minutos), rapidez, praticidade, realização a partir de uma pequena amostra de sangue total, soro ou plasma, além de não exigir equipamentos laboratoriais específicos, armazenamento

sob refrigeração e especialização tecnológica. Outra vantagem é a ausência de reação cruzada entre *T. cruzi* e *L. infantum chagasi* (ROSÁRIO et al., 2005; ZANETTE et al., 2008a; PORROZZI et al., 2007; SILVA et al., 2012).

A sensibilidade do teste de imunocromatografia com antígeno rK39 pode variar entre 77% e 91,5%, e a especificidade varia de 61 a 100% (REITHINGER et al., 2002; ZANETTE, 2006; LEMOS et al., 2008; LIMA et al., 2010). Segundo estudos realizados por Lemos et al. (2008) e Lima et al. (2010), a imunocromatografia apresentou sensibilidade inferior à técnica de ELISA, e especificidades semelhantes. Contudo, essa divergência pode ter ocorrido pelo antígeno utilizado no segundo teste ou pela condição clínica e imunológica dos animais (METTLER et al., 2005; LEMOS et al., 2008). De acordo com Lemos et al. (2008), a sensibilidade do teste rápido de imunocromatografia utilizando o antígeno recombinante rK39 na detecção de cães assintomáticos naturalmente infectados por *L. infantum chagasi* foi menor do que a observada em amostras sorológicas de cães com sinais clínicos da doença, confirmando os relatos de Mettler et al. (2005).

Feitosa et al. (2013), avaliando, por meio de imunocromatografia, amostras séricas de 68 equinos sororeagentes ao ELISA com conjugado anti-proteína A obtiveram resultados positivos em 19 delas, demonstrando que a concordância entre as técnicas para o diagnóstico de LV em equinos não foi boa.

### **2.6.3. Métodos Moleculares**

A reação em cadeia da polimerase (PCR) é uma técnica que permite identificar e ampliar seletivamente sequências de DNA do parasita em uma variedade de tecidos, incluindo medula óssea, aspirados de linfonodos, baço e fígado, biopsias cutâneas, conjuntiva, sangue, liquor e em cortes histológicos de tecidos parafinados e congelados (FISA et al., 2001; MANNA et al., 2004; NUNES et al., 2007; MAIA ; CAMPINO, 2008; MAIA et al., 2009; SOLANO-GALLEGO et al., 2009; LOMBARDO et al., 2012).

A escolha do tecido onde será realizada a pesquisa do DNA do parasita influencia a sensibilidade da reação. Nas amostras de sangue a sensibilidade é menor (NUNES et al., 2007), principalmente quando comparada com a reação proveniente de outros tecidos, como linfonodo, pele e medula óssea (MIRÓ et al.,

2008; PALTRINIERI et al., 2010). A técnica de PCR em Tempo Real (qPCR) é um método avançado que pode detectar níveis extremamente baixos de parasitas, baseando-se na detecção e quantificação em tempo real da fluorescência emitida proporcionalmente à síntese do produto de PCR. Trata-se de uma técnica consideravelmente mais sensível do que a PCR convencional, menos laboriosa e com menor risco de contaminação na sua execução, uma vez que utiliza um sistema fechado, o que eleva a especificidade do teste (MORTARINO et al., 2004; FRANCINO et al., 2006; MIRÓ, et al., 2008). Por essa razão é uma melhor opção em relação ao PCR convencional quando a investigação é feita em amostras de sangue total (SOLANO-GALEGO et al., 2001; FRANCINO et al., 2006).

Durante infecções naturais múltiplos métodos diagnósticos devem ser utilizados, já que uma única técnica não identifica todos os animais infectados (REITHINGER et al., 2002; MAIA ; CAMPINO, 2008; MIRÓ et al., 2008). De maneira geral a técnica de PCR é mais eficiente para detectar estágios iniciais da infecção, enquanto a sorologia é melhor para diagnosticar estágios mais avançados. No entanto, a sensibilidade da PCR se eleva quando a pesquisa é realizada em outros órgão, como linfonodos, baço e fígado (PALTRINIERI et al., 2010).

Com o intuito de obter resultados mais satisfatórios na investigação de animais infectados por *Leishmania infantum* em áreas endêmicas, alguns autores sugerem associar os dois meios de diagnóstico, na tentativa de detectar os animais assintomáticos e descartar outras doenças infecciosas que possam causar reações sorológicas cruzadas (SOLANO-GALLEGO et al., 2001; MIRÓ et al., 2008; SHANG et al., 2011). Ao avaliarem 183 gatos provenientes da Espanha, Martín-Sánchez et al. (2007) observaram que em 31,6% dos felinos com baixos títulos de anticorpos anti-*Leishmania* sp. foi possível amplificar fragmentos de DNA do parasita no sangue.

Na avaliação de grandes quantidades de animais, a utilização de amostras sanguíneas é mais vantajosa, pois a coleta é rápida, fácil e menos invasiva; entretanto, pode resultar em menor sensibilidade do teste, devido à baixa parasitemia dos animais infectados na dependência do tempo de evolução da doença (FISA et al., 2001; MANNA et al., 2004; NUNES et al., 2007; MAIA ; CAMPINO, 2008).

Em um estudo realizado em Petrolina (PE), Ramos et al. (2012) compararam a técnica de PCR convencional e de PCR em Tempo Real, utilizando amostras de medula óssea, linfonodos e baço de 35 cães naturalmente infectados por *L. infantum chagasi*, com e sem sinais clínicos da doença. Os autores observaram que a PCR em Tempo Real foi capaz de amplificar o DNA de leishmanias em 100% das amostras de tecidos linfóides de cães assintomáticos, enquanto a PCR convencional detectou o parasita em apenas 20% destes animais. Segundo Francino et al. (2006), enquanto a PCR convencional da medula óssea só conseguia detectar cães com carga parasitária maior ou igual a 30 parasitas/mL, a qPCR da mesma amostra detectava cães infectados com menos de 1 parasita/mL.

Enquanto a sorologia determina apenas que o animal apresentou contato com o agente infeccioso, mas não é capaz de distinguir um parasitismo atual ou passado; a determinação da carga parasitária no sangue de um animal infectado auxilia na avaliação da real importância deste como reservatório da doença, além de ser um bom indicador de infecção atual ou pregressa (PRINA et al., 2007; MIRÓ et al., 2008).

Julião (2011) propôs que a qPCR fosse utilizada como método de investigação para determinar se outras espécies animais, além dos cães, atuam como reservatórios da LV. Segundo o autor, a carga parasitária observada em amostras sanguíneas de bovinos provenientes de área endêmica para LV na Bahia foi semelhante à observada em cães portadores da doença. O uso da técnica de PCR em Tempo Real permitiu concluir que o gado pode atuar como reservatório da LV nesta região.

## **2.7 Fatores de risco associados à ocorrência de leishmaniose visceral**

O ambiente desempenha um importante papel na dinâmica de transmissão da LV. A pobreza ou a miséria, associadas à rápida e desorganizada urbanização nas periferias dos grandes centros urbanos, leva a um grande aglomerado populacional, habitações inadequadas e a falta de estruturação sanitária, favorecendo a expansão da doença (WERNECK et al., 2007; BOELAERT et al., 2009; CERBINO-NETO et al., 2009). Mais ainda, a redução dos investimentos em saúde e educação, falhas nas

ações de controle da doença, e adaptação do vetor aos ambientes modificados pelo homem, auxiliam na urbanização da LV (DUJARDIN et al., 2008).

Segundo Silva et. al. (2003), em muitos municípios pernambucanos os casos de LV parecem estar associados à modificação ambiental causada pelo homem e a ocupação desordenada do espaço físico. Em Petrolina (PE), divisa com a cidade de Juazeiro (BA), com a exportação de frutas advinda da irrigação houve grande influxo de pessoas para a cidade, além de industrialização e modernização da região. Contudo, este fato proporcionou o desemprego e a miséria dos agricultores, que se deslocaram para as periferias do município. Essa ocupação desordenada não foi acompanhada por investimentos na infraestrutura básica favorecendo a urbanização da LV na região (CESSE et al., 2001).

A presença de cães no interior dos domicílios ou em áreas peridomiciliares pode ser um fator de risco para a ocorrência de LV em seres humanos (MORENO et al., 2005; BORGES et al., 2009; FAYE et al., 2011). Em um estudo conduzido por Cesse et al. (2001), 67% dos pacientes humanos com LV possuíam animais em casa quando adoeceram, a maioria de médio e grande porte. A criação de animais pode piorar as condições sanitárias locais, devido à produção de resíduos orgânicos, o que favorece a atração e manutenção do vetor no ambiente (FELICIANGELI, 2004; LAINSON ; RANGEL, 2005).

De acordo com Borges et al. (2009), moradores com um ou dois cães em suas residências apresentaram, respectivamente, 1,87 e 3,36 vezes mais chances de contraírem a doença, quando comparados a indivíduos que não possuíam animais. De forma semelhante, Faye et al. (2011) verificaram que, além da presença dos cães duplicarem o risco da doença aos seres humanos, em casas com animais portadores de LV a chance dos moradores tornarem-se infectados foi 5,56 vezes maior do que naquelas habitações com animais não infectados. Segundo Gálvez et al. (2010), o risco de infecção é três vezes maior para os cães com acesso às ruas, do que para aqueles que residem em canis ou permanecem no interior das moradias.

Julião et al. (2007) e Barboza et al. (2006) verificaram que residir com gatos no mesmo ambiente não constituiu um risco para a ocorrência da doença canina. Por outro lado, Silva et al. (2012) concluíram que a presença de gatos infectados pode estar associada à prevalência da leishmaniose visceral em cães. De acordo

com os autores, casas com felinos apresentaram 58% mais chances de possuírem cães sororreagentes para *L. infantum chagasi* do que moradias sem gatos.

O convívio com outras espécies também pode favorecer o risco de infecção pelo parasita em animais ou em humanos (MOREIRA JR. et al., 2003; BARNETT et al., 2005; CAMARGO-NEVES, 2007; AZEVEDO et al., 2008). Enquanto Bern et al. (2000, 2005, 2010) sugeriram que uma maior densidade de vacas e búfalos nas proximidades das residências reduz o risco de casos de LV em seres humanos em Bangladesh; Bucheton et al. (2002) e Barnett et al. (2005) demonstraram aumento do risco de desenvolver a enfermidade associado ao fato de possuir um bovino em casa ou nas proximidades.

A complexidade do efeito da presença do gado sobre o risco de adquirir LV ocorre pelo fato de que sua presença pode alterar a dinâmica populacional e o comportamento dos flebotomíneos e, conseqüentemente, as taxas de infecção e exposição de seres humanos aos mesmos. Bern et al. (2000, 2010) sugeriram que os humanos que possuíam uma vaca ou búfalos em suas propriedades apresentavam menor risco de se infectarem com *L. donovani*, uma vez que esses animais podem atuar como uma fonte preferencial de alimento. Outra possibilidade, levantada pelos autores, é a de que os indivíduos que possuem animais de grande porte apresentam uma posição socioeconômica mais elevada, possuindo um melhor estado nutricional e, portanto, diminuindo as chances de adquirir a doença.

No que concerne às cabras, o convívio com esses animais pode contribuir para a infecção em humanos. Segundo Khanal et al. (2010), a proximidade de cabras sorologicamente positivas aumentou o risco de infecção por *L. donovani* em seres humanos no Nepal. Conforme elucidado pelos autores, os caprinos representam um fator de risco para o desenvolvimento de LV porque possuem um papel importante na distribuição espacial do parasita e, desta forma, no risco de infecção para seres humanos, por atraírem o vetor infectado para o ambiente peridoméstico.

Bhattarai et al. (2010), com o objetivo de determinar as razões pelas quais os casos LV continuam a ocorrer mesmo durante períodos intraepidêmicos, mapearam infecções por *L. donovani* em seres humanos, vacas, búfalos e cabras em uma área de transmissão ativa de LV no Nepal. A análise dos fatores de risco para a ocorrência da LV demonstrou que indivíduos vivendo em residências a uma

distância menor do que 22,8m de uma casa com um animal infectado apresentaram 37% de chance de também serem infectados, contra 7,9% se a distância entre as residências for maior do que 22,8m.

Na Índia, o risco de infecção por *L. donovani* é claramente observado em pessoas que residem em casas rebocadas de lama ou sem reboco (DESJEUX, 1996; RANJAN et al., 2005; SAHA et al., 2009), semelhante à outros estudos realizados no Nepal (BERN et al., 2000; SCHENKEL et al., 2006), Quênia (RYAN et al., 2006) e Brasil (CESSE et al., 2001). Por essas residências apresentarem rachaduras, reterem mais umidade nas paredes e no piso, e serem menos ventiladas favorecem a manutenção e procriação dos flebotomíneos, que permanecem em frestas e rachaduras das paredes ou no piso úmido, sem calçamento (HATI, 1983; BERN et al., 2000; SCHENKEL et al., 2006; SINGH et al., 2010). Residir nesse tipo de domicílio pode aumentar de duas a quatro vezes a chance de infecção humana pelo parasita (RANJAN et al., 2005; SAHA et al., 2009).

Bern et al. (2000) verificaram menor risco de infecção aos proprietários com melhor aquisição financeira, que viviam em moradias com mais de três cômodos, na Índia. Esse fato vem de encontro com os achados de Cesse et al. (2001) em Petrolina (PE), que verificaram que as baixas condições financeiras e a estruturação precária dos imóveis favoreceram a infecção por *L. infantum chagasi* em seres humanos.

Os resultados de estudos no que se refere ao papel das aves no ciclo epidemiológico da LV ainda são controversos. Enquanto alguns autores sugerem que a presença de galinhas nas residências está relacionada a maior proliferação do vetor da LV (RODRIGUES et al., 1999; ALEXANDER et al. 2002; LAINSON; RANGEL, 2005), em um estudo realizado no agreste pernambucano foi possível comprovar que a criação de aves ao redor das moradias pode atuar como uma barreira zooprofilática para a infecção por *L. infantum chagasi*, diminuindo a população de flebotomíneos no interior das residências e elevando a quantidade no interior dos galinheiros (COSTA, 2011).

Rodrigues et al. (1999) enfatizaram que os seres humanos que residiam em casas com criatórios de galinhas possuíam quatro vezes mais chance de infectarem-se do que as pessoas que viviam na mesma área, mas não possuíam estas aves em seus quintais. De forma semelhante, Borges et al. (2009), relataram que a presença

de patos, roedores, pássaros e galinhas próximas aos domicílios aumenta o risco de ocorrência de LV em seres humanos em 4,18; 1,81; 1,57 e 1,47 vezes, respectivamente.

Estudos realizados na região nordeste do Brasil (JULIÃO et al., 2007; SILVA et al., 2012) não verificaram associação entre a presença de galinhas e a infecção por *L. infantum chagasi* em cães. Da mesma forma, Singh et al. (2010), na Índia, não observaram um risco maior em seres humanos de adquirirem a doença, quando possuíam aves em suas residências.

A presença de cobertura vegetal (CERBINO-NETO et al., 2009), ausência de rede de esgoto (COSTA et al., 2005; CAMARGO-NEVES, 2007; BIGELI et al., 2012) e a coleta de lixo inadequada (COSTA et al., 2005; MORENO et al., 2005; CERBINO-NETO et al., 2009; BIGELI et al., 2012) também podem estar associados à manutenção da infecção por *L. infantum chagasi* em áreas urbanas. Esses fatores tornam o ambiente propício ao desenvolvimento de formas imaturas e à manutenção do vetor no ambiente (FELICIANGELI, 2004; FERNÁNDEZ et al., 2010).

Estima-se que a chance de infecção em áreas sem rede de esgoto ou sem coleta de lixo adequada possa ser quatro e seis vezes maior, respectivamente, do que aquela em áreas com serviço sanitário adequado (DHIMAN; SEAN, 1991; COSTA et al., 2005). Estudos avaliando o percentual de domicílios com água canalizada (CERBINO-NETO et al., 2009) e a presença de rede elétrica (FERNÁNDEZ et al., 2010), considerados fatores indicativos de melhoria no nível socioeconômico, verificaram uma associação inversa com a incidência de LV e a alta densidade de flebotomíneos respectivamente.

Por outro lado, alguns estudos realizados no Brasil não evidenciaram associação entre a coleta de lixo irregular ou a ausência de infraestrutura sanitária adequada e a infecção por *L. infantum chagasi* em cães (COURA-VITAL et al., 2011; SILVA et al., 2012). De acordo com Coura-Vital et al. (2011), quase a totalidade das casas visitadas em Belo Horizonte (MG) possuíam coleta de lixo pública e saneamento básico, o que pode ter causado a falta de correlação entre os fatores de risco e a enfermidade canina.

## **2.8 Medidas de prevenção e controle da leishmaniose visceral**

No Brasil, as medidas de profilaxia adotadas pelo Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (PVCLV), do Ministério da Saúde, são direcionadas basicamente ao homem, cães e vetores. Essas medidas incluem a utilização de mosquiteiros ao redor das camas; uso de telas em portas e janelas e uso de repelentes e não exposição ao vetor durante o período crepuscular e noturno, na tentativa de evitar o contato dos seres humanos com os flebotomíneos (BRASIL, 2006).

Em relação aos cães, além das medidas citadas, recomenda-se a utilização de coleiras impregnadas com deltametrina a 4% (KILLICK-KENDRICK et al., 1997; CAMARGO-NEVES et al., 2004; BRASIL, 2006). Essa alternativa de prevenção demonstrou ser eficaz na redução da incidência de casos humanos e caninos em várias regiões (MAROLI et al., 2001; CAMARGO-NEVES et al., 2004).

No que concerne às medidas de prevenção direcionadas ao flebotomíneo, busca-se a limpeza frequente de quintais e terrenos; poda de árvores; limpeza e ventilação das áreas com criação de animais; não permanência de animais domésticos no interior das residências; destino adequado do lixo; infraestrutura sanitária adequada e uso de reboco ou cal na construção das residências, visando reduzir a quantidade de matéria orgânica, a umidade e a presença de áreas sombreadas, que favorecem a procriação e manutenção dos flebotomíneos (BRASIL, 2006; SCHENKEL, 2006).

Atualmente as medidas de controle para a enfermidade no Brasil incluem a educação em saúde, o diagnóstico e tratamento dos casos humanos; borrifação residual com inseticidas nas residências e no mínimo a 200 metros ao redor da residência com caso humano de LV, bem como a eliminação dos cães sororreagentes ou infectados (BRASIL, 2006). Para obter melhores resultados, os métodos de controle devem estar associados às medidas de prevenção da doença (BRASIL, 2006; RONDON et al., 2008).

## 2.9 Geoprocessamento e Análise Espacial

Com o intuito de auxiliar na identificação de áreas de risco e na elaboração de medidas de controle da leishmaniose visceral muitos estudos utilizam como recurso o geoprocessamento e a análise espacial, facilitando a ação da Vigilância Epidemiológica na investigação, controle e prevenção da enfermidade (CAMARGO-NEVES et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2001; CERBINO-NETO et al., 2009; CARVALHO; SOUZA-SANTOS, 2005; ANTONIALLI et al., 2006).

Com esta ferramenta, é possível observar com mais facilidade a distribuição e deslocamento espacial da leishmaniose no decorrer do tempo, identificar os padrões geográficos de morbidade e mortalidade, espacializar os fatores de risco ambiental e socioeconômico, além de elaborar medidas atuais e preditivas de controle da doença (SANTOS ; BARCELLOS, 2006; DIAS ; YWAZAKI, 2007).

O geoprocessamento permite o tratamento, manipulação e apresentação de dados georreferenciados, a partir do uso de informações cartográficas e das coordenadas associadas a esses mapas. Esta ferramenta tecnológica necessita de programas computadorizados especializados, denominados de Sistema de Informações Georreferenciados (SIG ou GIS), que integram as informações obtidas, criam bancos de dados, além de realizar a análise espacial dos dados (CAMARGO - NEVES et al., 2004; CÂMARA ; CARVALHO, 2004; SANTOS ; BARCELLOS, 2006; SANTOS ; SOUZA, 2007; DIAS ; YWAZAKI, 2007).

A análise espacial é uma vertente da estatística que estuda métodos científicos para coleta, descrição, visualização, análise e interpretação de dados georreferenciados (KHEIFETS, 1993; ASSUNÇÃO, 2001; WERNECK et al., 2002; MARTINS et al., 2007) que, quando convertidos em informações podem ser empregados na investigação epidemiológica de diversas zoonoses, como a LV (SANTOS ; BARCELLOS, 2006; DIAS ; YWAZAKI, 2007; MARTINS et al., 2007). Além disso, esta análise permite a superposição e interação de mapas e dados georreferenciados, bem como a identificação de aglomerados (“clusters”), o que proporciona uma visão mais ampla das áreas de risco para a instalação ou manutenção da doença, nem sempre identificados por meio de mapas temáticos (BARCELLOS; BASTOS 1996; CÂMARA ; CARVALHO, 2004).

Na tentativa de estabelecer um modelo de vigilância epidemiológica redirecionando as estratégias de controle atualmente adotadas, Camargo-Neves et al. (2001) observaram, por meio do geoprocessamento, que a transmissão da LV na região noroeste do Estado de São Paulo (SP) ocorreu principalmente em regiões com maior prevalência da doença canina; contudo, sem associação com a densidade de vetores. Esta análise auxiliou no estabelecimento de medidas de prevenção e controle da enfermidade na região.

Oliveira et al. (2001) detectaram por meio da análise espacial, a presença de “clusters” focais de humanos infectados por *L. infantum chagasi* e de cães portadores da enfermidade em micro-regiões de Belo Horizonte (MG), associando esses achados não apenas com a presença de áreas com alta densidade de flebotomíneos, mas também com as baixas condições socioeconômicas da população.

Outros estudos envolvendo a tecnologia espacial demonstraram uma associação direta entre a ocorrência de LV e de fatores ambientais e socioeconômicos, tais como a presença de vegetação (CERBINO-NETO et al., 2009), distribuição vetorial (FÉRNANDEZ et al., 2010); infraestrutura sanitária deficiente (CERBINO-NETO et al., 2009; WERNECK et al., 2002), urbanização caótica e pobreza (WERNECK et al., 2002).

Da mesma forma, Antonialli et al. (2006) concluíram que a evolução espacial da LV no Mato Grosso do Sul (MS) ocorreu no sentido oeste (Corumbá) a leste (Três Lagoas) do estado, devido à construção da rodovia federal e ao gasoduto Bolívia–Brasil o que, conseqüentemente, expandiu a doença para a região noroeste do Estado de São Paulo (ANTONIALLI et al., 2006; BRASIL, 2012e).

Glória (2006) também verificou em Palmas (TO) uma associação espacial entre a ocorrência de LV humana e as áreas com grande aglomerado populacional, a presença de mato próximo ou entre as regiões habitadas e a ausência de infraestrutura sanitária, principalmente em bairros periféricos. Além disso, ao analisar a superposição das áreas com humanos infectados e com cães portadores de LV, a autora observou correlação entre a doença humana e canina.

Ainda em Palmas, um estudo conduzido em cães ressaltou que a presença de vegetação, lixo, a falta de infra-estrutura sanitária e a presença de cães e aves no peridomicílio estavam associados com a ocorrência de LV (BIGELI et al., 2012).

Dentre as vertentes da análise espacial, o estimador de interpolação de Kernel permite a formação de uma superfície de densidade contínua de risco, com visualização rápida e fácil das regiões expostas a diferentes graus de risco, de acordo com a intensidade da ocorrência dos eventos (CÂMARA; CARVALHO, 2004; BARCELLOS et al., 2007). Esta função realiza uma contagem de todos os pontos dentro de um raio de influência (largura de banda), ponderando-os pela distância em relação à localização de interesse, não dependendo da divisão político-administrativa existente, sendo por isso muito utilizada na investigação de doenças vetoriais. Além disso, a análise de Kernel aproxima os fenômenos naturais e socioeconômicos e proporciona uma visão atual e até preditiva das áreas com maior intensidade de eventos ou de risco, que necessitam de maior atenção da vigilância epidemiológica (CÂMARA; CARVALHO, 2004).

Com auxílio da análise de Kernel, Prado et al. (2011) observaram áreas de intensa concentração de cães com LV associadas com casos humanos da doença na cidade de Montes-Claros (MG), o que contribuiu para as ações da vigilância epidemiológica nessa região.

Associando a análise de Kernel a outros métodos estatísticos, Bern et al. (2005) demonstraram que as áreas com maior concentração de vacas por km<sup>2</sup> no Nepal apresentaram um efeito protetor para a leishmaniose visceral humana. Na mesma região, Khanal et al. (2010) verificaram que a distribuição espacial de indivíduos e cabras com presença de anticorpos anti-*Leishmania* sp. não estavam totalmente sobrepostos. Contudo, a análise de Kernel demonstrou a presença de áreas com alta intensidade (“áreas quentes”) para ambas as espécies, próximas às regiões com vegetação abundante. Segundo os autores, essas áreas com aglomerados de cabras provavelmente estão em “sinergismo” com a região arborizada, o que sugere que esses animais possuam um papel significativo na distribuição espacial do parasita, atraindo os flebotomíneos e aumentando em 9,7 vezes o risco de infecção em seres humanos.

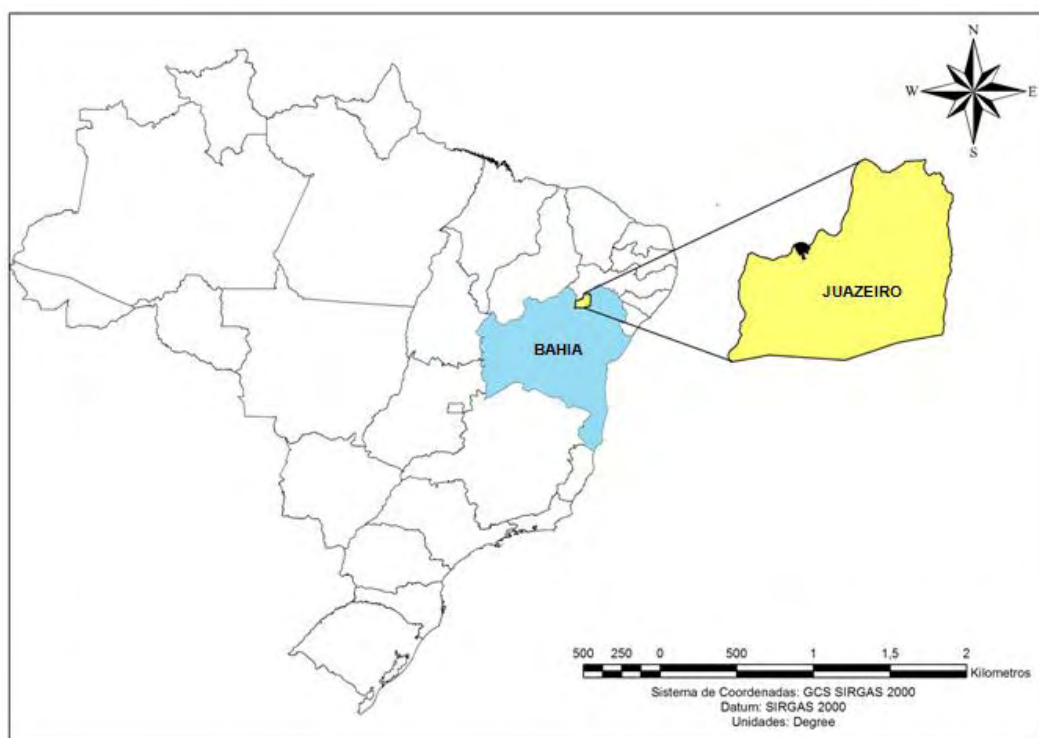
### 3. OBJETIVOS

Em face do que foi exposto, o presente estudo teve por objetivos pesquisar a presença de anticorpos anti-*Leishmania* sp. e de DNA de *Leishmania infantum chagasi* no sangue periférico e soro de diversas espécies de animais domésticos, como caninos, felinos, caprinos, ovinos, asininos, muares e equinos que residem perto de seres humanos com diagnóstico de LV no município de Juazeiro, Bahia, na tentativa de caracterizá-los como sinalizadores de infecção para seres humanos, além de determinar os possíveis fatores de risco para a ocorrência da enfermidade.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Área de estudo

O município de Juazeiro situa-se ao norte do Estado da Bahia (Figura 5A), micro-região sub-média do Vale do Rio São Francisco, composto por mais sete municípios, como Campo Alegre de Lourdes, Casa Nova, Curaçá, Pilão Arcado, Remanso, Sento Sé e Sobradinho (Figura 5B). Além da sede, o município de Juazeiro possui sete distritos, denominados Abóbora, Pinhões, Itamotinga, Massaroca, Juremal, Carnaíba do Sertão e Junco.

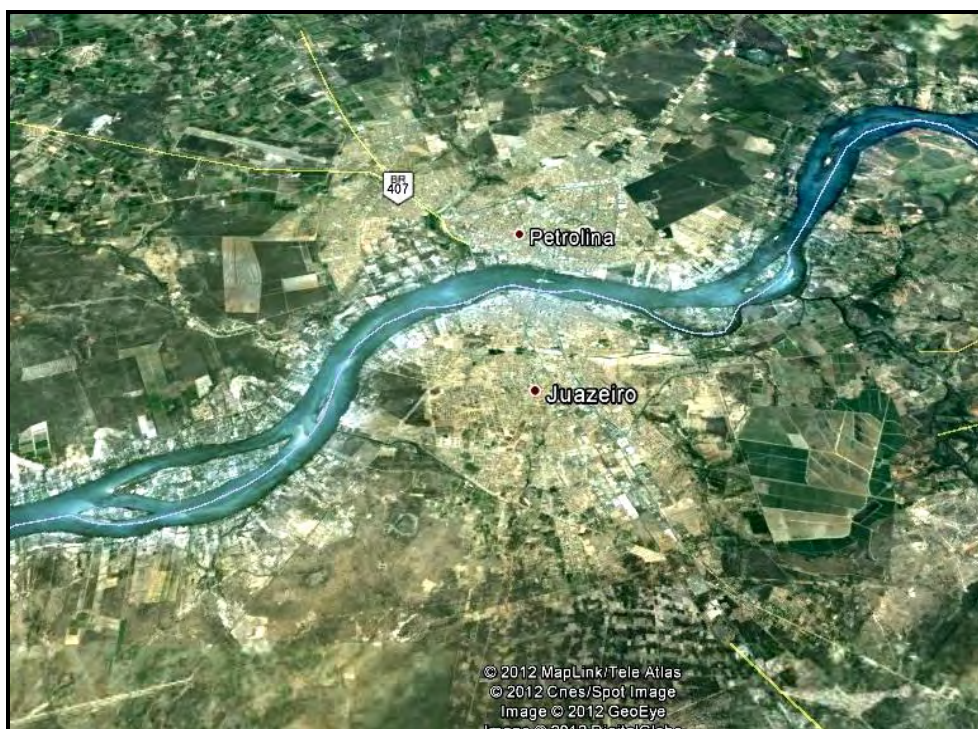


**Figura 5.** Localização geográfica do Estado da Bahia (azul) e do município de Juazeiro – BA (amarelo). (Jaboticabal – SP, 2013).

Juazeiro localiza-se a aproximadamente 500 km da capital Salvador e situa-se a 9° 24' 50" de latitude; 40° 30' 1" de longitude, 368 metros de altitude em relação ao nível do mar, além de apresentar uma área de 6.639,623 km<sup>2</sup>. O município possui clima semiárido, chuvas escassas e irregulares (precipitação pluviométrica de 399

mm/ano), com temperatura mínima de 20,3°C e máxima de 43,6°C e vegetação típica de caatinga (IBGE, 2012).

De acordo com o censo populacional de 2010 do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), Juazeiro (BA) possui aproximadamente 197.965 habitantes, dos quais 160.775 (81,21%) residem em área urbana e 37.190 (18,79%) em área rural. A densidade demográfica do município é de 30,45 habitantes/km<sup>2</sup> e, em conjunto com o município de Petrolina, em Pernambuco, forma o maior aglomerado urbano da região semiárida, totalizando 499.512 habitantes (Figura 6 e 7).



Fonte: Copyrights 2012 Google Earth; 2012 Digital Globe

**Figura 6.** Imagem aérea obtida por satélite mostrando a localização e proximidade entre as cidades de Petrolina – PE e Juazeiro – BA. (Jaboticabal – SP, 2013).

O município de Juazeiro possui cerca de 55 mil domicílios permanentes, dos quais 43.111 encontram-se na área urbana. A coleta de lixo é realizada em 86% de sua área e o abastecimento de água e rede de esgoto sanitário atendem, respectivamente, 98% e 69,89% da malha urbana (IBGE, 2012).

Em relação à população, aproximadamente 55% (109.000) dos habitantes possui faixa etária entre 10 e 39 anos. Cerca de 20% (45.493) da população com

idade superior a 18 anos é analfabeta e 60% (118.779) possui menos que quatro anos de estudos (IBGE, 2012).



Fonte: <http://www.skyscrapercity.com/showthread.php?t=465755>

**Figura 7.** Imagem aérea demonstrando a localização e proximidade entre as cidades de Juazeiro – BA e Petrolina – PE. (Jaboticabal – SP, 2013).

A renda média da população é de cerca de três salários mínimos e o índice médio de desenvolvimento humano do município é de 0,683, na escala de 0 a 1. Quanto às principais atividades econômicas da região destacam-se a vinicultura, agricultura irrigada, agropecuária e o comércio (IBGE, 2012).

#### **4.2 Identificação de casos de leishmaniose visceral no município**

Para a identificação dos casos de LV na população de Juazeiro foram utilizados os dados enviados ao Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) do Ministério da Saúde do Brasil, notificados durante o período de janeiro de 2007 a dezembro de 2010, fornecidos pela Secretaria Municipal de Saúde (SMS), (Apêndice A) (BRASIL, 2011). A localização das quadras onde se encontravam as residências com pacientes portadores de LV foram disponibilizadas pela Secretaria de Controle de Zoonoses e Vigilância Sanitária (SVS).

A partir destas informações escolheu-se, por logística, o bairro com maior concentração de casos humanos, seguido pelos bairros mais próximos. Desta forma, dos 51 casos notificados no SINAN, foram considerados 21 casos humanos com diagnóstico de LV, distribuídos em seis bairros: Piranga, Piranga I, Padre Vicente, Argemiro, Quidé e Pedra do Lord. Dos casos selecionados, dois pacientes (casos 3 e 4) habitavam a mesma residência. Os bairros selecionados, com o respectivo número de habitantes e de domicílios permanentes, bem como o ano de notificação dos casos de LV, encontram-se apresentados no Quadro 1.

### 4.3 Seleção dos animais domésticos

Foram avaliados todos os animais, domiciliados ou semidomiciliados, independentes de espécie, com idade superior a seis meses, que residiam ou pernoitavam em um raio de 250 metros de distância dos indivíduos. A colheita das amostras foi realizada durante o período de julho de 2010 a dezembro de 2011.

**Quadro 1.** Distribuição quanto ao número de habitantes, número de domicílios permanentes e número de casos de leishmaniose visceral entre os anos de 2007 e 2010, nos diferentes bairros do município de Juazeiro – BA, segundo a Secretaria Municipal de Saúde. (Jaboticabal – SP, 2013).

| Bairros              | Habitantes | Domicílios permanentes | Casos humanos / ano |      |      |      |          |
|----------------------|------------|------------------------|---------------------|------|------|------|----------|
|                      |            |                        | 2007                | 2008 | 2009 | 2010 | total    |
| <b>Piranga</b>       | 9564       | 2391                   | 1                   | 3    | 3    | 0    | <b>7</b> |
| <b>Piranga I</b>     | 2472       | 618                    | 0                   | 0    | 0    | 1    | <b>1</b> |
| <b>Padre Vicente</b> | 5568       | 1392                   | 1                   | 0    | 0    | 0    | <b>1</b> |
| <b>Argemiro</b>      | 5260       | 1315                   | 5                   | 0    | 0    | 0    | <b>5</b> |
| <b>Quidé</b>         | 9424       | 2356                   | 3                   | 0    | 2    | 1    | <b>6</b> |
| <b>Pedra do Lord</b> | 1080       | 270                    | 0                   | 0    | 0    | 1    | <b>1</b> |

#### 4.4 Delineamento experimental

Após a identificação das quadras onde haviam sido notificados os casos de LV, as coordenadas (latitude, longitude e altitude) do ponto central do quarteirão foram obtidas com o auxílio de um aparelho de GPS<sup>1</sup> (Sistema de Posicionamento Global) e transportadas para um programa computacional<sup>2</sup>, para serem plotadas em um mapa digital<sup>3</sup>. Em seguida, mensurou-se um raio de 250 metros ao redor de cada caso humano e todas as residências compreendidas nesse raio foram identificadas a fim de serem visitadas. Somente foram incluídas no estudo habitações onde haviam animais domésticos, domiciliados ou semidomiciliados.

Após o consentimento do responsável pela residência no momento da visita, e a assinatura do *Termo de Consentimento Livre Esclarecido* (Anexo A), aplicava-se um questionário (Anexo B) para obter informações quanto às características do domicílio (casa de taipa, madeira, alvenaria; sem forro, com forro de gesso ou laje; com piso de terra, cimento ou cerâmica; presença de telas nas janelas; número de cômodos; banheiro dentro ou fora da residência; presença de quintal e calçamento do mesmo), características ambientais (presença de esgoto canalizado ou fossa séptica; água canalizada; presença de lixo e entulhos na residência ou peridomiciliar; coleta de lixo na rua; presença de mato na casa ou peridomiciliar), bem como informações sobre os moradores (número de indivíduos por residência, profissão, idade, sexo, deslocamento de algum morador para outras regiões e quais, conhecimento sobre LV e se na residência eram adotadas medidas de prevenção contra a doença) (Anexo B). Também foram anotados os dados referentes aos animais (número de animais por residência, espécie, raça, sexo, idade, realização prévia de exames para diagnóstico de leishmaniose, métodos de controle da enfermidade, se os animais eram domiciliados ou semidomiciliados, isto é, com livre acesso a rua (Anexo B).

Após a aplicação do questionário realizou-se, na própria residência, a colheita das amostras de sangue total de todos os animais, com exceção daqueles com idade inferior a seis meses e das fêmeas em fase final da gestação, devido aos riscos de aborto ou nascimento prematuro durante a contenção física.

---

<sup>1</sup> eTrex® 10, Garmin Ltd., Kansas City, Missouri, USA

<sup>2</sup> MapSource software version 6.16.3, Garmin Ltd., Kansas City, Missouri, USA

<sup>3</sup> Google Earth®, Google Inc., Mountain View, California, USA

As amostras sanguíneas foram obtidas para realização de sorologia e pesquisa de DNA de *L. infantum chagasi* por meio da Reação em Cadeia de Polimerase em Tempo Real (qPCR). A detecção de anticorpos séricos anti-*Leishmania* sp. foi realizada pelo método de ELISA indireto em todas as espécies animais. Como não havia um controle positivo da reação para caprinos, ovinos, asininos, muares e equinos, utilizou-se controles provenientes de outras espécies e as amostras destes animais foram também avaliadas por meio de um kit comercial de imunocromatografia.

Após as coletas das amostras, as coordenadas (latitude, longitude e altitude) dos domicílios visitados foram captadas por um aparelho de GPS<sup>4</sup>, realizando-se o posterior geoprocessamento e a análise espacial dos dados.

#### **4.5 Colheita das amostras**

A colheita de sangue total para realização das provas sorológicas e moleculares foi feita por punção da veia jugular de todos os animais, independente da espécie, com agulhas 25X8 acopladas a seringas estéreis de 10 mL, após a antissepsia local. Em seguida, duas amostras de 1 mL foram imediatamente acondicionadas em tubo plástico cônico de polipropileno com anticoagulante do tipo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e congeladas a -20°C, até o momento da realização da técnica de PCR. O restante do sangue foi mantido em um tubo de ensaio à temperatura ambiente até a coagulação e retração visível do coágulo, centrifugado a 3000 rpm (1620g) durante cinco minutos para aquisição do soro, e então congelado a -20°C até o momento da realização da técnica de ELISA e da imunocromatografia.

---

<sup>4</sup> eTrex® 10, Garmin Ltd., Kansas City, Missouri, USA

#### 4.6. Ensaio imunoenzimático (ELISA) indireto para leishmaniose visceral

O ELISA indireto foi realizado no Laboratório de Investigações Médicas (LIM-50) do Departamento de Patologia, da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP).

##### 4.6.1. Produção de antígeno de *Leishmania infantum chagasi*

Promastigotas de *L. infantum chagasi* foram isoladas a partir de baço de hamster cronicamente infectado, em meio de cultura Schneider, suplementado com 10% de soro fetal bovino, 2% de urina humana, 10 µg/mL de gentamicina e 100 UI/mL de penicilina. Após duas a três passagens em cultura, promastigotas em fase estacionária de cultivo foram lavadas três vezes em solução salina tamponada (PBS) estéril, através de centrifugação a 3000 rpm (1620g) por 10 minutos a - 4°C, em centrífuga refrigerada<sup>5</sup> e estocadas em freezer a -80°C, na forma de um “pellet” formado no fundo do tubo.

Para o preparo do antígeno, o “pellet” contendo as formas promastigotas do parasito foi congelado em nitrogênio líquido e descongelado em temperatura ambiente por três vezes consecutivas e, posteriormente, sonicado em potência quatro em um ciclo de um minuto, seguindo-se de centrifugação a 12000 rpm (1529g) por 30 minutos a 4°C e armazenamento do sobrenadante a - 80°C. Utilizou-se uma alíquota para a dosagem de proteínas pelo método de Bradford (Bio-Rad Protein Assay<sup>6</sup>).

##### 4.6.2 ELISA Indireto - Espécie canina

Após a titulação em bloco, padronizou-se as seguintes condições para o teste de ELISA indireto: as microplacas<sup>7</sup> foram cobertas com antígeno solúvel de *L. infantum chagasi*, cepa MHOM/BR/72/cepa46, numa concentração de 10 µg/mL em tampão carbonato 0,05 M, pH 9,5, e incubadas por 18 horas a 4°C. Após esse período, as placas foram lavadas três vezes com salina tamponada e PBS contendo 0,05% de tween 20 (PBS-T) e então bloqueadas com 150 µL de leite em pó

<sup>5</sup> Eppendorf, Modelo 5804R, Hamburg, Germany

<sup>6</sup> Bio-Rad Protein Assay – Hercules, California, EUA

<sup>7</sup> Costar® 3590 well EIA/RIA plates, Sigma Aldrich - St.. Louis, Missouri, EUA

desnatado a 10%<sup>8</sup> diluído em PBS e incubadas a 37°C durante duas horas em câmara úmida. Após três lavagens em PBS-T adicionou-se 100 µL por poço das amostras de soros dos animais controle positivo e controle negativo e dos cães a serem testados, diluídas 1:400 em PBS-T, e as placas foram incubadas por uma hora à temperatura ambiente.

Em seguida, adicionou-se 100 µL por poço do conjugado anti-IgG total de cão ligado à peroxidase<sup>9</sup> na diluição de 1:80.000 em PBS-T. Após 45 minutos de incubação à 37°C foram adicionados 100µL da solução de tetrametilbenzidina dihidroclorada (TMB)<sup>10</sup> com posterior incubação da placa por 30 minutos, ao abrigo de luz, em temperatura ambiente. A reação foi interrompida colocando-se 50 µL de ácido sulfúrico 2N em cada poço e a densidade óptica (D.O.) foi determinada em leitor de ELISA<sup>11</sup> utilizando-se filtro de 450 nm. Entre cada etapa as placas foram lavadas três vezes com PBS-T.

Como controle positivo de cada reação utilizou-se soro de dois cães parasitologicamente positivos com elevados títulos de anticorpos anti - *L. infantum chagasi*, provenientes do município de Araçatuba - São Paulo e, como controle negativo utilizou-se o soro de seis cães provenientes de área não endêmica para a doença. Os resultados foram expressos pela média da densidade óptica obtida dos soros em duplicata.

O ponto de corte (0,203) da reação foi estabelecido utilizando-se a média das densidades ópticas de 30 animais soronegativos, provenientes de área não endêmica para a doença, acrescida de três desvios padrões.

Os valores de densidade óptica média dos animais foram corrigidos em função das médias dos controles positivos e negativos de cada placa, utilizando-se o modelo de A/P (amostra em relação ao positivo):

$$A/P = \frac{\text{DO média da amostra} - \text{DO média do controle negativo}}{\text{DO média do controle positivo} - \text{DO média do controle negativo}}$$

<sup>8</sup> Leite desnatado Molico® - Nestlé, São Paulo, SP, Brasil

<sup>9</sup> A40-123P Bethyl, Montgomery, Missouri, USA

<sup>10</sup> Código 55214, BD Biosciences Pharmingen, San Diego, Califórnia, USA

<sup>11</sup> Labsystems Multiskan EX - Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, Massachusetts, USA

#### 4.6.3 ELISA Indireto – Espécie felina

A técnica de ELISA indireto para a pesquisa de anticorpos anti - *L. infantum chagasi* em gatos foi semelhante à de cães, no entanto a diluição do conjugado anti-IgG total de gato ligado à peroxidase<sup>12</sup> foi de 1:40.000.

Como controle positivo de cada reação utilizou-se soro de dois gatos parasitologicamente positivos com elevados títulos de anticorpos anti-*L. infantum chagasi* proveniente do município de Araçatuba, São Paulo e, como controle negativo, utilizou-se soro de oito felinos proveniente de área não endêmica para a doença.

Os resultados foram expressos pela média da densidade óptica obtida dos soros em duplicata e os valores de densidade óptica média dos animais foram corrigidos em função das médias dos controles positivos e negativos de cada placa, utilizando-se o modelo de A/P.

O ponto de corte (0,165) da reação foi estabelecido utilizando-se a média das densidades ópticas de 50 animais soronegativos, acrescida de três desvios padrões.

Os valores de densidade óptica média dos animais foram corrigidos em função das médias dos controles positivos e negativos de cada placa, utilizando-se o modelo de A/P (amostra em relação ao positivo), assim como na espécie canina.

#### 4.6.4 ELISA Indireto – Outras espécies

A técnica de ELISA indireto para a pesquisa de anticorpos anti -*L. infantum chagasi* em caprinos, ovinos e equídeos foi semelhante à de cães e gatos, com algumas modificações.

Para a padronização das diluições do soro desses animais e determinação da concentração do conjugado proteína A<sup>13</sup> realizou-se ensaio com diluições de soro dos animais controle positivo e negativo de 1:25, 1:50, 1:100, 1:200, 1:400, 1:800 e 1:1600, bem como da proteína A nas concentrações 1: 5000, 1: 10000, 1:20.000, 1:40.000 e 1:80.000. A escolha das melhores diluições foi determinada pelas diferenças das densidades ópticas médias dos dois controles, em triplicata, tendo sido preconizadas as concentrações de soro de 1:200 e de proteína A de 1:40.000.

---

<sup>12</sup> A20-120P Bethyl, Montgomery, Missouri, USA

<sup>13</sup> Sigma – Aldrich Brasil LTDA cod. P8651, St. Louis, Missouri, USA

Como controle positivo de cada reação utilizou-se soro de cinco primatas parasitologicamente positivos com elevados títulos de anticorpos anti - *L. infantum chagasi* provenientes de Belém - Pará e, como controle negativo, utilizou-se soro de cinco primatas provenientes de área não endêmica para a doença. O ponto de corte da reação (cut-off) foi de 1,024.

#### **4.7 Imunocromatografia para leishmaniose visceral – Outras espécies**

Para a realização da técnica de imunocromatografia utilizou-se um *kit* comercial<sup>14</sup> que detecta a presença de anticorpos anti-leishmania do complexo *Leishmania donovani* no soro. Em uma fita impregnada com o antígeno eram aplicados 20 µL do soro a ser testado e, em seguida adicionava-se três gotas de tampão em um tubo plástico de polipropileno cônico, onde a fita era imersa. A mistura então ascendia através da membrana por capilaridade, e a leitura era realizada após 10 minutos. A fita apresenta uma membrana pré-coberta com o antígeno recombinante (rK39) na região da banda teste e anti-proteína A na região da banda controle.

Na presença de anticorpos anti-*Leishmania* a amostra de soro reage com o conjugado colorimétrico produzindo uma banda vermelha. Apesar da presença de anticorpos no soro, a mistura continua a migrar na membrana até a região da anti-proteína A, dando origem a uma nova banda vermelha nesta região. A presença desta linha indica um volume adequado da amostra de soro utilizada, um fluxo adequado na fita e a viabilidade dos reagentes. Desta forma, o teste era considerado positivo quando se formavam duas faixas vermelhas e, negativo, quando aparecia somente a faixa controle. Os resultados foram determinados individualmente, de forma qualitativa (positivo ou negativo), conforme recomendação do fabricante.

---

<sup>14</sup> Kalazar Detect Animal Rapid Test – Inbios International, Inc. Seattle, Washington, USA

## 4.8 Reação de cadeia da polimerase em tempo real (qPCR)

As amostras de sangue total em EDTA foram conservadas a -20°C e encaminhadas, em gelo seco, até o Laboratório de Biologia Molecular da IDEXX Reference Laboratories, West Sacramento, Califórnia, USA, onde foi realizada a reação de PCR em Tempo Real.

### 4.8.1 Extração de DNA

A extração do DNA das amostras de sangue total foi realizada por meio de protocolo padrão do sistema Corbett X-Tractor Gene platform<sup>15</sup>, segundo instruções do fabricante. Em cada placa de extração foi colocado um controle negativo (de extração), constituído pela solução de lise acrescida de PBS. Na solução de lise era adicionando-se, ainda, um fragmento de DNA construído artificialmente (lambda), para garantir que não houve inibição da extração (controle positivo interno).

### 4.8.2. Amplificação de DNA de *Leishmania* sp.

Sequências altamente conservadas do gene que codifica a proteína de superfície gp63 da *Leishmania infantum* foram alinhadas e selecionou-se uma região para o desenho de dois *primers* e uma *probe* usando o programa *Primer Express*<sup>16</sup>. As sequências dos *primers* e da *probe* são propriedade da IDEXX Laboratories e, por isso não foram reveladas. A reação de PCR em Tempo Real foi realizada com concentrações padronizadas dos *primers* e *probe* utilizando-se Master Mix comercial<sup>17</sup>.

As amostras foram então amplificadas usando-se o aparelho termociclador<sup>18</sup>. Em cada amostra foi amplificado o gene que codifica a fração 18S do rRNA (controle de qualidade da amostra) e o controle positivo (lambda) para assegurar que a extração ocorreu corretamente e que não haviam inibidores da extração. Amplicons foram submetidos a sequenciamento de acordo com o protocolo padrão.

---

<sup>15</sup> Qiagen®, Valencia, Califórnia, USA

<sup>16</sup> Version 3.0, Applied Biosystems, Foster City, California, USA

<sup>17</sup> Roche Light Cycler® 480 Probes Master, Roche Applied Science, Indianapolis, IN, USA

<sup>18</sup> Roche LC480 instrument, Roche Applied Science, Indianapolis IN, USA

#### 4.9 Análise espacial

O georreferenciamento dos casos humanos e dos imóveis visitados foi realizado com o auxílio de um aparelho de GPS<sup>19</sup>. Em seguida, os dados foram transportados para o Sistema de Informação Geográficas (SIG) ArcGIS 10.1<sup>20</sup>, com o qual foram sobrepostos ao mapa do município de Juazeiro – BA, disponibilizado pela Secretaria Municipal de Saúde (SMS). As etapas de modelagem do banco de dados e plotagem dos mapas foram realizadas no Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, câmpus de Botucatu – SP.

A análise de vizinhança foi utilizada para avaliar, por meio da proximidade, a formação ou não de aglomerados (*“clusters”*) dos casos humanos de LV, bem como das residências visitadas.

Inicialmente realizou-se uma análise de vizinhança (*“Average Nearest Neighbor”*), para conhecer o padrão de distribuição das seguintes variáveis: residências com humanos portadores de LV, imóveis visitados e residências com animais infectados. Esta análise permite aceitar ou rejeitar a hipótese de nulidade de que as amostras estão distribuídas sem uma relação espacial, permitindo, desta forma, verificar se as variáveis estão agrupadas formando aglomerados (*“clusters”*), se estão distribuídas aleatoriamente, porém com uma certa relação espacial entre elas ou, ainda, se estão totalmente dispersas pela área estudada.

Posteriormente realizou-se uma avaliação da intensidade dos pontos para as seguintes variáveis: animais infectados, presença de galinheiro no quintal, presença de lixo e mato peridomiciliar e esgoto não canalizado utilizando-se o interpolador de Kernel com raio adaptativo de 250 metros.

Em seguida, realizou-se uma análise de predição das mesmas variáveis, utilizando-se o interpolador de Kernel com alisamento (Kernel Smoothing), com função gaussiana, potencia 1, pico 50, largura de banda 250 metros e variável de peso: animais infectados.

---

<sup>19</sup> eTrex® 10, Garmin Ltd., Kansas City, Missouri, USA

<sup>20</sup> ArcGIS 10.1™ – ESRI® – Environmental Systems Research Institute, San Diego, California, USA

#### 4.10 Análise estatística

Os resultados do presente estudo foram submetidos aos testes não paramétricos de Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) ou Teste exato de Fisher com o intuito de determinar duas proporções:

- a associação entre as características das residências (construção da casa, número de cômodos, presença e calçamento do quintal, número de pessoas e animais por casa) e os bairros visitados;
- a associação entre as características do ambiente (galinheiros, lixo, mato peridomiciliar e falta de rede de esgoto) e os bairros visitados;
- a associação entre os fatores individuais dos animais (espécie, sexo, faixa etária e acesso a rua) e a infecção por *L. infantum chagasi*;
- a associação entre características das residências (construção da casa, número de cômodos, presença e calçamento do quintal, número de pessoas e animais por casa) e a presença de animais portadores de LV ;
- associação entre a distância média entre as residências com animais portadores de LV e as casas com humanos portadores da doença;

A associação dos fatores de risco foram observados pela razões de chances de ocorrência (*Odds ratio* - OR) e o intervalo de confiança (IC) de 95%.

As análises foram consideradas estatisticamente significativas quando  $p < 0,05$  e realizadas utilizando-se os programas “Statistical Analysis System” (SAS) e o EpiInfo<sup>TM 21</sup>.

---

<sup>21</sup>CDC (Centers for Disease Control and Prevention), versão 7.1.0.6., Atlanta, Geórgia, USA

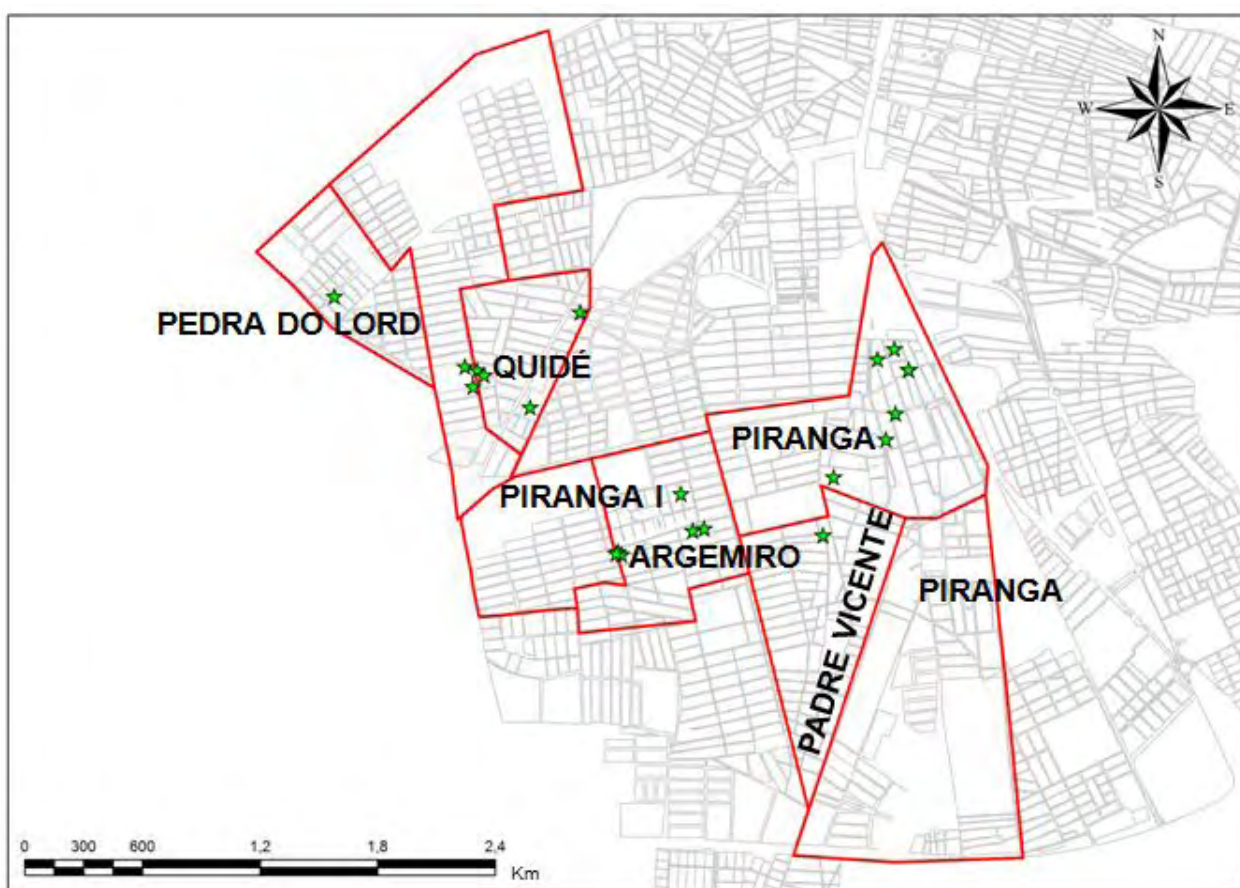
#### **4.11 Aspectos Éticos**

O presente projeto de pesquisa foi realizado de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação (COBEA) e foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA), da Universidade Estadual Paulista (UNESP), *campus* Jaboticabal - SP, conforme o processo nº 017698/11 (Apêndice B).

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Área de estudo

As 20 casas onde residiam os 21 pacientes com LV encontravam-se distribuídas no bairro Piranga (n=7), Piranga I (n=1), Padre Vicente (n=1), Argemiro (n=5), Quidé (n=6) e Pedra do Lord (n=1), no município de Juazeiro – BA (Figura 8). Dois indivíduos residiam na mesma casa do bairro Piranga e três residências estão praticamente sobrepostas no mapa, no bairro Argemiro (Figura 8).



**Figura 8.** Localização das 20 residências com caso humano de leishmaniose visceral (estrelas verdes), distribuídas nos diferentes bairros do município de Juazeiro – BA. Linhas em vermelho delimitam setores do município, de acordo com a Secretaria Municipal de Saúde. (Jaboticabal – SP, 2013).

### 5.1.1 Ruas e domicílios

Foram visitadas 298 residências, distribuídas em 55 ruas dos bairros Piranga, Piranga I, Padre Vicente, Argemiro, Quidé e Pedra do Lord. A maior parte das ruas visitadas não era pavimentada ou apresentava pavimentação precária. Cerca de 221 (75%) das residências possuía acesso à rede de esgoto. Contudo, os proprietários nem sempre possuíam condições financeiras para realizar a ligação do mesmo para suas casas, de modo que ainda é frequente a observação de esgoto a céu aberto e a utilização de fossas sépticas nos quintais. Muitos animais de grande porte alimentam-se de capim que nasce junto ao esgoto, justamente por ser uma fonte de água, o que favorece o crescimento da vegetação. Ademais, cães, gatos, cabras, cavalos e jumentos são frequentemente visualizados bebendo água de esgoto a céu aberto (Figura 9), além de ser comum a identificação de crianças brincando ao redor dos mesmos.

No município de Juazeiro é constante a presença de terrenos baldios peridomiciliares que albergam lixo, materiais em decomposição, além de mato (Figura 10). A coleta de lixo é realizada em todas as ruas visitadas, de duas a três vezes por semana. Contudo, a prefeitura e os proprietários nem sempre realizam a limpeza ao redor de suas residências, nos quintais ou nos terrenos vizinhos (Figura 10).

No que concerne às 298 residências visitadas, 291 (97,65%) eram de alvenaria, no entanto, a maioria com características simples, mal rebocadas ou sem uso de reboco. Muitas vezes, na mesma região encontravam-se casas de taipa e de alvenaria (Figura 11), na dependência do bairro visitado. Sete (2,35%) residências eram de taipa. A presença de forro, quer seja de laje ou gesso, foi evidenciada em 100 (33,55%) dos 298 domicílios. Quanto ao piso, três (1%) habitações apresentavam piso de terra batida e o restante era calçado com cimento ou com cimento e cerâmica. Trinta e três (11,07%) moradias possuíam banheiro fora de casa e uma residência (0,33%) não dispunha do mesmo.



**Figura 9.** Ilustração de equinos bebendo água no esgoto não canalizado em uma rua do bairro Padre Vicente, município de Juazeiro – BA. (Jaboticabal – SP, 2013).



**Figura 10.** Ilustração de terreno baldio, presença de lixo e mato no Bairro Piranga, município de Juazeiro - BA. (Jaboticabal – SP, 2013).



**Figura 11.** Ilustração de residências de taipa (seta vermelha) e de alvenaria (seta azul) localizadas no bairro Piranga I, município de Juazeiro – BA. (Jaboticabal – SP, 2013).

O tamanho das residências era bastante variado, refletindo-se no número de cômodos, que chegava a 12 em duas casas. Entretanto, as maiores residências nem sempre continham os melhores acabamentos e, portanto, não indicavam, necessariamente, melhores condições socioeconômicas do proprietário.

Duzentas e oitenta e sete casas (95,97%) possuíam quintal, em sua maioria de terra (64,69%). Em 60 moradias (20,13%) os proprietários criavam galinhas, com aves transitando livremente nos quintais e, com menor frequência, no interior dos domicílios. A presença de mato ou árvores frutíferas nos quintais ou ao redor das residências foi identificado em 117 domicílios (39,26%), enquanto em 159 (53,35%) foi possível observar lixo acumulado no interior das casas e matéria orgânica (frutas e folhas) em decomposição nos quintais e na região peridomiciliar.

As principais características das residências que fizeram parte do presente estudo, no que diz respeito ao número de cômodos, tipo de construção, piso da casa, forro do teto, presença e localização de banheiro, quintal, criação de galinhas, presença de mato, lixo e acesso a rede de esgoto encontram-se apresentadas no Quadro 2.

**Quadro 2.** Características das residências e do ambiente das 298 casas visitadas no município de Juazeiro - BA, de acordo com o número de cômodos. (Jaboticabal – SP, 2013).

| VARIÁVEIS                  | NÚMERO DE CÔMODOS |       |              |       |            |       | TOTAL  |       |
|----------------------------|-------------------|-------|--------------|-------|------------|-------|--------|-------|
|                            | 1-3<br>n=45       |       | 4-7<br>n=195 |       | >7<br>n=58 |       | n= 298 |       |
|                            | n                 | %     | n            | %     | n          | %     | n      | %     |
| <b>CONSTRUÇÃO DA CASA</b>  |                   |       |              |       |            |       |        |       |
| Alvenaria                  | 41                | 14,08 | 192          | 65,97 | 58         | 19,95 | 291    | 97,65 |
| Taipa                      | 4                 | 57,14 | 3            | 42,86 | -          | -     | 7      | 2,35  |
| <b>PISO DA CASA</b>        |                   |       |              |       |            |       |        |       |
| Terra                      | 2                 | 66,67 | 1            | 33,33 | -          | -     | 3      | 1,00  |
| Calçado                    | 43                | 14,57 | 194          | 65,76 | 58         | 19,67 | 295    | 99,00 |
| <b>FORRO DO TETO</b>       |                   |       |              |       |            |       |        |       |
| Sem forro                  | 38                | 19,09 | 139          | 69,84 | 23         | 11,07 | 199    | 66,77 |
| Com forro                  | 7                 | 7,07  | 57           | 57,57 | 35         | 35,36 | 99     | 33,23 |
| <b>BANHEIRO</b>            |                   |       |              |       |            |       |        |       |
| Fora de casa               | 15                | 46,87 | 15           | 46,87 | 2          | 6,26  | 32     | 10,73 |
| Dentro de casa             | 29                | 10,94 | 180          | 67,92 | 56         | 21,14 | 265    | 88,92 |
| Ausente                    | 1                 | 100   | -            | -     | -          | -     | 1      | 0,35  |
| <b>QUINTAL</b>             |                   |       |              |       |            |       |        |       |
| Ausente                    | 1                 | 9,09  | 9            | 81,82 | 1          | 9,09  | 11     | 3,69  |
| Terra                      | 36                | 19,35 | 125          | 67,20 | 25         | 13,45 | 186    | 62,41 |
| Calçado                    | 8                 | 7,92  | 61           | 60,39 | 32         | 31,69 | 101    | 33,90 |
| <b>CRIAÇÃO DE GALINHAS</b> |                   |       |              |       |            |       |        |       |
| Não                        | 37                | 15,54 | 158          | 66,38 | 43         | 18,08 | 238    | 79,86 |
| Sim                        | 8                 | 13,34 | 37           | 61,66 | 15         | 25,00 | 60     | 20,14 |
| <b>MATO</b>                |                   |       |              |       |            |       |        |       |
| Não                        | 27                | 14,91 | 111          | 61,32 | 43         | 23,77 | 181    | 60,73 |
| Sim                        | 18                | 15,38 | 84           | 71,79 | 15         | 12,83 | 117    | 39,27 |
| <b>LIXO</b>                |                   |       |              |       |            |       |        |       |
| Não                        | 17                | 12,23 | 96           | 69,06 | 26         | 18,71 | 139    | 46,64 |
| Sim                        | 28                | 17,61 | 99           | 62,26 | 32         | 20,13 | 159    | 53,36 |
| <b>ESGOTO CANALIZADO</b>   |                   |       |              |       |            |       |        |       |
| Não                        | 12                | 15,58 | 30           | 38,96 | 35         | 45,46 | 77     | 25,83 |
| Sim                        | 33                | 14,93 | 165          | 74,76 | 23         | 10,40 | 221    | 74,17 |

De acordo com o questionário realizado, 1.222 pessoas residiam nas 298 casas visitadas, com um número mínimo de um, máximo de 10 e uma média de quatro pessoas por residência. A faixa etária da população avaliada variou de um mês a 95 anos, com média de 29,8 anos de idade. Sessenta e nove (5,65%) moradores apresentavam idade inferior ou igual a cinco anos e 115 (9,41%) possuíam mais de 60 anos. Quanto ao sexo, 635 (51,96%) moradores pertenciam ao sexo feminino.

Apenas 13 (4,36%) indivíduos responsáveis pelos domicílios possuíam ensino superior completo, sendo 10 professores, duas enfermeiras e um engenheiro agrônomo. Outros 13 (4,36%) possuíam formação técnica, 256 (85,91%) possuíam apenas o ensino fundamental ou médio e 26 (8,73%) eram analfabetos.

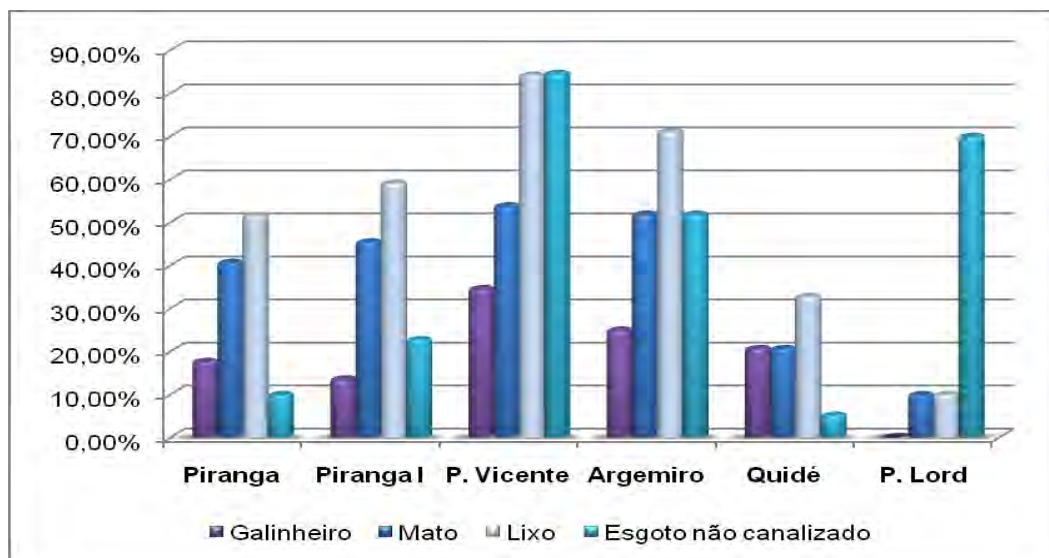
Segundo as informações fornecidas pelos entrevistados, em 87 (29,19%) residências visitadas algum dos moradores já havia se deslocado para outras localidades, tais como Casa Nova (BA), Feira de Santana (BA), Jacobina (BA), João Pessoa (PB), Juazeiro do Norte (CE), Salvador (BA), Senhor do Bonfim (BA), Sento-Sé (BA), Sobradinho (BA) e Teresina (PI).

Com exceção das galinhas, as residências visitadas possuíam um total de 498 animais, com um mínimo de um e o máximo de oito animais por casa (mediana de 1 e média de 1,67 animais/casa). Entretanto, 185 domicílios (62,08%) possuíam apenas um animal e 113 (37,92%) possuíam dois ou mais animais, na sua maioria cães ou gatos.

### **5.1.2 Bairros visitados**

Por apresentar o maior número de residências com casos de LV em humanos, o bairro Piranga foi o que apresentou o maior número de casas avaliadas ( $p < 0,002$ ). Das 298 moradias, 130 (43,62%) localizavam-se no bairro Piranga, 58 (19,46%) no Quidé, 52 (17,45%) no Argemiro, 26 (8,72%) no Padre Vicente, 22 (7,38%) no Piranga I e 10 (3,37%) no bairro Pedra do Lord.

Embora não tenha sido verificada diferença significativa entre o tipo de construção nas residências dos bairros avaliados ( $p = 0,164$ ), observou-se que as moradias dos bairros Padre Vicente, Quidé e Argemiro eram mais simples do que nos demais. No Pedra do Lord foram visitadas apenas 10 casas, entretanto, estas possuíam melhor acabamento e maior proporção de quintais caçados. Todas as casas visitadas neste bairro possuíam fossa séptica e, este foi o bairro que apresentou a menor percentagem de casas com mato e lixo peridomiciliar, sugerindo melhores condições socioeconômicas por parte dos proprietários. Por outro lado, o bairro Padre Vicente, onde foram visitadas 26 casas, foi o que apresentou maior percentagem de casas com galinheiros (34,62%), lixo (84,22%), esgoto a céu aberto (84,22%) e mato (53,85%) (Figuras 12 e 13).



**Figura 12.** Distribuição, em porcentagem, da presença de galinheiros, mato, lixo peridomiciliar e/ou domiciliar e esgoto não canalizado nas residências localizadas nos diferentes bairros do município de Juazeiro – BA. (Jaboticabal – SP, 2013).



**Figura 13.** Ilustração de uma rua não pavimentada, com presença de lixo e esgoto a céu aberto, localizada no bairro Padre Vicente, município de Juazeiro – BA. (Jaboticabal – SP, 2013).

No presente estudo não foi verificada diferença entre o número de habitantes e de animais por casa, nos diferentes bairros. Contudo, cerca de 77% das residências localizadas no bairro Piranga I continham mais de três moradores e 90% dos imóveis do Pedra do Lord possuíam apenas um animal (Tabela 1).

As principais características das residências visitadas, de acordo com o bairro, bem como o resultado da análise estatística dos dados, encontram-se apresentadas na Tabela 2.

**Tabela 1.** Distribuição do número de habitantes e de animais por residência, de acordo com o bairro visitado, no município de Juazeiro – BA. (Jaboticabal – SP, 2013).

| CASA       | BAIRROS                |                         |                          |                        |                     |                       | p*    |
|------------|------------------------|-------------------------|--------------------------|------------------------|---------------------|-----------------------|-------|
|            | Piranga<br>(130 casas) | Piranga I<br>(22 casas) | P. Vicente<br>(26 casas) | Argemiro<br>(52 casas) | Quidé<br>(58 casas) | P. Lord<br>(10 casas) |       |
| Habitantes |                        |                         |                          |                        |                     |                       |       |
| ≤ 3        | 57 (43,84%)            | 5 (22,73%)              | 12 (46,15%)              | 22 (42,30%)            | 26 (44,82%)         | 4 (40%)               | 0,562 |
| > 3        | 73 (56,16%)            | 17 (77,27%)             | 14 (53,85%)              | 30 (57,70%)            | 32 (55,18%)         | 6 (60%)               |       |
| Animais    |                        |                         |                          |                        |                     |                       |       |
| 1          | 82 (63,07%)            | 16 (72,73%)             | 13 (50%)                 | 33 (63,46%)            | 32 (55,17%)         | 9 (90%)               | 0,202 |
| > 1        | 48 (36,93%)            | 6 (27,27%)              | 13 (50%)                 | 19 (36,54%)            | 26 (44,83%)         | 1 (10%)               |       |

\*Teste qui-quadrado (p<0,05).

**Tabela 2.** Distribuição quanto às características das residências visitadas, de acordo com o tipo de construção, número de cômodos, presença e tipo de quintal, criação de galinhas, bem como a presença de mato e lixo domiciliar/peridomiciliar e esgoto canalizado nos diferentes bairros do município de Juazeiro - BA. Número de habitantes e de construções por bairro, de acordo com os dados da SMS de Juazeiro-BA. (Jaboticabal – SP, 2013).

| CASA<br>(n= total de casas visitadas) | BAIRROS                          |                                    |                                      |                                  |                                | P                               |
|---------------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
|                                       | PIRANGA<br>(9564 hab/2391 casas) | PIRANGA I<br>(2472 hab/ 618 casas) | PADRE VICENTE<br>(5568hb/1392 casas) | ARGEMIRO<br>(5260hab/1315 casas) | QUIDÉ<br>(5424 hab/2356 casas) | P. LORD<br>(1080 hab/270 casas) |
| <b>CONSTRUÇÃO DA CASA</b>             |                                  |                                    |                                      |                                  |                                |                                 |
| Alvenaria (n=291)                     | 129 (99,23%)                     | 22 (100%)                          | 25 (96,15%)                          | 51 (98,08%)                      | 54 (93,10%)                    | 10 (100%)                       |
| Taipa (n=7)                           | 1 (0,77%)                        | -                                  | 1 (3,85%)                            | 1 (1,92%)                        | 4 (6,90%)                      | -                               |
| <b>NÚMERO DE CÔMODOS</b>              |                                  |                                    |                                      |                                  |                                |                                 |
| ≤3 (n=45)                             | 12 (9,23%)                       | 6 (27,27%)                         | 3 (11,54%)                           | 7 (13,46%)                       | 13 (22,41%)                    | 4 (40%)                         |
| ≥ 3 (253)                             | 118 (90,77%)                     | 16 (72,73%)                        | 23 (88,47%)                          | 45 (86,54%)                      | 45 (77,59%)                    | 6 (60%)                         |
| <b>QUINTAL</b>                        |                                  |                                    |                                      |                                  |                                |                                 |
| Não (n=12)                            | 8 (6,15%)                        | -                                  | 1 (3,85%)                            | 2 (3,85%)                        | 1 (1,72%)                      | -                               |
| Sim (n=286)                           | 122 (93,85%)                     | 22 (100%)                          | 25 (96,15%)                          | 50 (96,15%)                      | 57 (98,28%)                    | 10 (100%)                       |
| <b>TIPO DE QUINTAL</b>                |                                  |                                    |                                      |                                  |                                |                                 |
| Terra (n=186)                         | 68 (55,74%)                      | 16 (72,73%)                        | 16 (64%)                             | 42 (84%)                         | 42 (73,68%)                    | 2 (20%)                         |
| Calçado (n=100)                       | 54 (44,26%)                      | 6 (27,27%)                         | 9 (36%)                              | 8 (16%)                          | 15 (26,32%)                    | 8 (80%)                         |
| <b>criação de GALINHAS</b>            |                                  |                                    |                                      |                                  |                                |                                 |
| Não (n=238)                           | 107 (82,30%)                     | 19 (86,36%)                        | 17 (65,38%)                          | 39 (75%)                         | 46 (79,31%)                    | 10 (100%)                       |
| Sim (n=60)                            | 23 (17,70%)                      | 3 (13,64%)                         | 9 (34,62%)                           | 13 (25%)                         | 12 (20,69%)                    | -                               |
| <b>MATO</b>                           |                                  |                                    |                                      |                                  |                                |                                 |
| Não (n=181)                           | 77 (59,23%)                      | 12 (54,55%)                        | 12 (46,15%)                          | 25 (48,08%)                      | 46 (79,31%)                    | 9 (90%)                         |
| Sim (n=117)                           | 53 (40,77%)                      | 10 (45,45%)                        | 14 (53,85%)                          | 27 (51,92%)                      | 12 (20,69%)                    | 1 (10%)                         |
| <b>LIXO</b>                           |                                  |                                    |                                      |                                  |                                |                                 |
| Não (n=139)                           | 63 (48,46%)                      | 9 (40,91%)                         | 4 (15,38%)                           | 15 (28,85%)                      | 39 (67,24%)                    | 9 (90%)                         |
| Sim (n=159)                           | 67 (51,54%)                      | 13 (59,09%)                        | 22 (84,22%)                          | 37 (71,15%)                      | 19 (32,76%)                    | 1 (10%)                         |
| <b>ESGOTO CANALIZADO</b>              |                                  |                                    |                                      |                                  |                                |                                 |
| Não canalizado (n=77)                 | 13 (10%)                         | 5 (22,73%)                         | 22 (84,62%)                          | 27 (51,92%)                      | 3 (5,17%)                      | 7 (70%)                         |
| Canalizado (n=221)                    | 117 (90%)                        | 17 (77,27%)                        | 4 (15,38%)                           | 25 (48,08%)                      | 55 (94,93%)                    | 3 (30%)                         |
| <b>TOTAL CASAS / BAIRRO</b>           | <b>130 (100%)</b>                | <b>22 (100%)</b>                   | <b>26 (100%)</b>                     | <b>52 (100%)</b>                 | <b>58 (100%)</b>               | <b>10 (100%)</b>                |

(hab) habitantes; <sup>a</sup> Teste qui-quadrado (p<0,05); <sup>b</sup> Teste Exato de Fisher (p<0,05); (-) ausente ou zero.

### 5.1.3 População animal

Foram avaliados 498 animais, dos quais 93,8% (467/498) pertenciam às espécies canina e felina, sendo 76,91% (383/498) cães e 16,87% (84/498) gatos. Os outros 6,2% (31/498) correspondiam a 3,00% (15/498) da espécie caprina, 1,20% (6/498) asinina, 0,80% (4/498) ovina, 0,6% (3/498) muar e 0,60% (3/498) equina. A quase totalidade dos animais avaliados (82,32%) não apresentava definição racial. Em relação aos cães, 65/383 (16,97%) possuíam raça definida, enquanto o mesmo foi verificado em 23 (27,38%) dos 84 gatos estudados. No que diz respeito ao sexo e à idade, 60,64% (302/498) dos animais eram machos e cerca de 73% (362/498) da população estudada apresentavam idade superior a um ano.

Todos os equinos, muares e asininos possuíam acesso a rua e eram usados como meio de transporte. Grande percentagem desses animais residia em praças ou terrenos ao lado das casas, e alguns permaneciam, após o trabalho diário, em estábulos feitos de madeira, conforme ilustrado na Figura 14. Quanto aos ovinos e caprinos, 15,8% (3/19) possuíam acesso frequente às ruas e residiam nas mesmas, geralmente em terrenos ao lado da propriedade. Os outros ficavam estabulados e, assim como os demais, eram criados para o comércio ilegal de carne. Já em relação aos cães e gatos, 50,6% (194/383) e 79,3% (72/84), respectivamente, tinham acesso esporádico ou frequente às ruas. Cerca de 28% (55/194) dos cães permaneciam em quintais, presos a correntes. A distribuição dos animais quanto à espécie, sexo, faixa etária e acesso a rua, encontra-se apresentada no Quadro 3.



**Figura 14.** Imagem de estábulo de madeira (seta) usado como abrigo para equinos de tração, localizado em terreno baldio. Bairro Piranga, município de Juazeiro - BA. (Jaboticabal – SP, 2013).

**Quadro 3.** Distribuição em número e percentagem quanto à espécie, sexo, faixa etária e acesso a rua, de uma população de 498 animais do município de Juazeiro - BA. (Jaboticabal – SP, 2013).

| CARACTERÍSTICAS     | POPULAÇÃO ANIMAL (n=498) |             |
|---------------------|--------------------------|-------------|
|                     | Número de Animais        | Percentagem |
| <b>ESPÉCIE</b>      |                          |             |
| Canina              | 383                      | 76,90%      |
| Felina              | 84                       | 16,80%      |
| Outros              | 31                       | 6,30%       |
| <b>SEXO</b>         |                          |             |
| Fêmea               | 196                      | 39,40%      |
| Macho               | 302                      | 60,60%      |
| <b>IDADE</b>        |                          |             |
| 6 meses a 1 ano     | 136                      | 27,30%      |
| > 1 ano             | 362                      | 72,69%      |
| <b>ACESSO A RUA</b> |                          |             |
| Domiciliado         | 204                      | 41,00%      |
| Semidomiciliado     | 294                      | 59,00%      |

Dos 498 animais avaliados, 43,17% residia nos bairros Piranga, Quidé e Argemiro. Verificou-se um predomínio de cães, seguido de gatos, em todos os bairros exceto no Quidé, em que havia uma maior proporção de animais de tração e produção do que de felinos. No bairro Pedra do Lord só foram identificados cães e gatos. Quanto ao sexo, não houve diferença significativa em relação à sua distribuição nos diferentes bairros, observando-se um predomínio de machos ( $p=0,818$ ). Houve, ainda, um predomínio de animais com mais de um ano de idade em todos os bairros ( $p=0,003$ ).

Quanto ao manejo, não houve diferença entre animais domiciliados ou semidomiciliados nos diferentes bairros ( $p=0,429$ ). Enquanto nos bairros Piranga, Piranga I, Padre Vicente e Argemiro a maior parte dos animais eram semidomiciliados, no Pedra do Lord a maioria dos animais permanecia nas residências e quintais. Muitos não saíam de casa por estarem presos a correntes, e não necessariamente porque as casas eram muradas. O número de animais, e suas respectivas percentagens, quanto à espécie, sexo, faixa etária e acesso a rua, nos diferentes bairros, encontram-se dispostos na Tabela 3.

**Tabela 3.** Distribuição quanto à espécie, sexo, faixa etária e acesso a rua, de 498 animais avaliados em residências localizadas em um raio de 250 metros ao redor de casos humanos de leishmaniose visceral, nos diferentes bairros do município de Juazeiro – BA. (Jaboticabal – SP, 2013).

| ANIMAL          | BAIRROS          |                   |                    |                  |                |                 | p                     |
|-----------------|------------------|-------------------|--------------------|------------------|----------------|-----------------|-----------------------|
|                 | PIRANGA<br>n=215 | PIRANGA I<br>n=31 | P. VICENTE<br>n=49 | ARGEMIRO<br>n=92 | QUIDÉ<br>n=100 | P. LORD<br>n=11 |                       |
| ESPÉCIE         |                  |                   |                    |                  |                |                 |                       |
| Canina          | 179(83,26%)      | 20 (64,50%)       | 37 (75,50%)        | 66 (71,74%)      | 73 (73,00%)    | 8 (72,73%)      | < 0,0001 <sup>b</sup> |
| Felina          | 32 (14,88%)      | 9 (29,00%)        | 8 (16,30%)         | 23 (25,00%)      | 9 (9,00%)      | 3 (27,27%)      |                       |
| Outras          | 4 (1,86%)        | 2 (6,45%)         | 4 (8,16%)          | 3 (3,26%)        | 18 (18,00%)    | -               |                       |
| SEXO            |                  |                   |                    |                  |                |                 |                       |
| Macho           | 123(57,20%)      | 20 (64,51%)       | 32 (65,31%)        | 59 (64,13%)      | 61 (61,00%)    | 7 (63,64%)      | 0,818 <sup>a</sup>    |
| Fêmea           | 92 (42,80%)      | 11 (35,49%)       | 17 (34,69%)        | 33 (35,87%)      | 39 (39,00%)    | 4 (36,36%)      |                       |
| IDADE           |                  |                   |                    |                  |                |                 |                       |
| ≤ 1 ano         | 73 (33,95%)      | 6 (19,35%)        | 15 (30,61%)        | 11 (11,95%)      | 29 (29%)       | 2 (18,18%)      | 0,003 <sup>b</sup>    |
| > 1 ano         | 142(66,05%)      | 25 (80,64%)       | 34 (69,39%)        | 81 (88,05%)      | 71 (71%)       | 9 (81,81%)      |                       |
| ACESSO A RUA    |                  |                   |                    |                  |                |                 |                       |
| Domiciliado     | 80 (37,20%)      | 13 (41,93%)       | 19 (38,78%)        | 37(40,22%)       | 49 (49,0%)     | 6(54,55%)       | 0,429 <sup>a</sup>    |
| Semidomiciliado | 135(62,80%)      | 18 (58,07%)       | 30 (61,22%)        | 55 (59,78%)      | 51(51,0%)      | 5(45,45%)       |                       |

<sup>a</sup> Teste qui-quadrado ( $p<0,05$ ); <sup>b</sup> Teste Exato de Fisher ( $p<0,05$ ); (-) ausente ou zero.

## 5.2 Pesquisa de leishmaniose visceral e de fatores de risco envolvidos

A ocorrência de LV na população animal estudada, considerando-se os resultados sorológicos e da PCR em Tempo Real, foi de 6,43% (32/498), sendo 5,75% (22/383) na população de cães e 11,90% (10/84) na de gatos ( $p=0,023$ ). A reação de ELISA apresentou resultados acima do ponto de corte em 5,22% (20/383) dos caninos e 11,90% (10/84) dos felinos. Em relação às outras espécies (caprinos, ovinos, muares, asininos e equinos), não foram detectados, por meio da técnica de ELISA indireto e da imunocromatografia, anticorpos anti-*Leishmania* sp. no soro desses animais (Tabela 4).

Em apenas dois (0,40%) dos 498 animais avaliados, ambos da espécie canina, foi possível amplificar fragmentos de DNA de *L. infantum chagasi* no sangue periférico por meio da técnica da PCR em Tempo Real. Estes não apresentavam anticorpos séricos anti-*Leishmania* sp. (Tabela 4). Todas as amostras testadas por PCR em Tempo Real apresentaram amplificação do gene 18S do rRNA, e em todas as reações de PCR houve amplificação do lambda. A eficiência de amplificação foi de 99%. Os Cts de amplificação das amostras de sangue dos cães 52C2 e 62C2 foram 28,24 e 24,10, respectivamente. A sequência de nucleotídeos obtida resultou em níveis de identidade entre 97% e 100% com as sequências XM 001463664.1, XM001463663.1, XM 001463662.1, AM502228.1 (geneBank), confirmando o diagnóstico de infecção por *Leishmania infantum chagasi*.

**Tabela 4.** Resultado da pesquisa de anticorpos anti-*Leishmania* sp. e de DNA de *L. infantum chagasi* em uma população de 498 animais do município de Juazeiro – BA. Número absoluto e percentagem. (Jaboticabal – SP, 2013).

| ESPÉCIES                         |           | ELISA        | IMUNOCROMATOGRÁFIA | PCR <i>L. infantum chagasi</i> | p*           |
|----------------------------------|-----------|--------------|--------------------|--------------------------------|--------------|
| <b>CANINOS</b><br>(n=383)        | Positivos | 20 (5,22%)   | NR                 | 2 (0,52%)                      | <b>0,023</b> |
|                                  | Negativos | 363 (94,78%) | NR                 | 381 (99,48%)                   |              |
| <b>FELINOS</b><br>(n=84)         | Positivos | 10 (11,90%)  | NR                 | -                              |              |
|                                  | Negativos | 74 (88,10%)  | NR                 | 84 (100%)                      |              |
| <b>OUTRAS ESPÉCIES</b><br>(n=31) | Positivos | -            | -                  | -                              |              |
|                                  | Negativos | 31 (100%)    | 31 (100%)          | -                              |              |

(NR) não realizado; (-) ausente ou zero; \*Teste qui-quadrado ( $p<0,05$ ).

No presente estudo os gatos apresentaram duas vezes mais chances de se tornarem portadores da LV do que os cães (Tabela 5). O sexo e a faixa etária não foram associados como fatores de risco individuais para a infecção por *L. infantum chagasi* em gatos; contudo, os felinos domiciliados apresentaram 9,57 vezes mais risco de infecção do que os gatos que saem de casa. Para os cães, o sexo, a idade e o acesso a rua não apresentaram associação com a infecção pelo parasita (Tabela 6). Nenhum animal portador de LV possuía definição racial, não havendo associação entre a raça e a doença ( $p=0,063$ ).

Verificou-se diferença significativa ( $p=0,004$ ) entre os bairros no que tange a distribuição de cães e gatos com LV, sendo a maior concentração dos casos observada no bairro Piranga (12,09%; 26/211). O Quadro 4 apresenta o número de casos humanos de leishmaniose visceral, bem como a distribuição dos cães e gatos com presença de anticorpos anti-*Leishmania* sp. e fragmentos de DNA do protozoário no sangue periférico, de acordo com o bairro visitado.

**Tabela 5.** Fator de risco, quanto à espécie, para a infecção por *L. infantum chagasi* em animais domésticos do município de Juazeiro-BA. Odds ratio (OR) e respectivo intervalo de confiança (IC) a 95%. (Jaboticabal – SP, 2013).

| ESPÉCIE       | <i>L. infantum chagasi</i> |                         | OR   | IC (95%)     | P*           |
|---------------|----------------------------|-------------------------|------|--------------|--------------|
|               | Positivo (%)<br>(n=32)     | Negativo (%)<br>(n=435) |      |              |              |
| <b>Felina</b> | 10/84(11,90%)              | 74/84(88,10%)           | 2,21 | (1,1 – 4,87) | <b>0,043</b> |
| <b>Canina</b> | 22/383 (5,74%)             | 361/383(94,26%)         | 1    |              |              |

\*Teste qui-quadrado ( $p<0,05$ ).

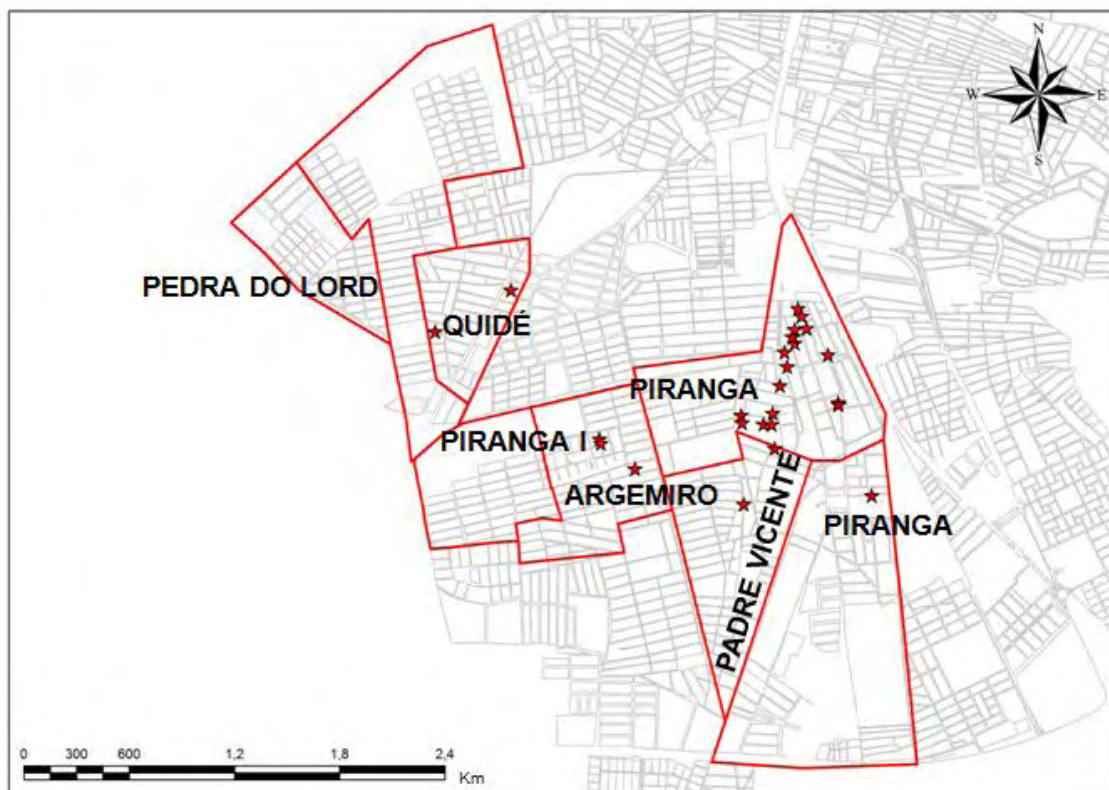
**Tabela 6.** Fatores de risco, quanto ao sexo, idade e acesso à rua, para a infecção por *L. infantum chagasi* em cães e gatos do município de Juazeiro-BA. Odds ratio (OR) e respectivo intervalo de confiança (IC) a 95%. (Jaboticabal – SP, 2013).

| FATORES DE RISCO | <i>L. infantum chagasi</i> |                         | OR   | IC (95%)     | p                   |
|------------------|----------------------------|-------------------------|------|--------------|---------------------|
|                  | Positivo (%)<br>(n=32)     | Negativo (%)<br>(n=435) |      |              |                     |
| FELINOS          |                            |                         |      |              |                     |
| SEXO             |                            |                         |      |              |                     |
| Fêmea            | 5/10 (50,00%)              | 28/74 (37,84%)          | 1,64 | 0,43 – 6,18  | 0,460 <sup>a</sup>  |
| Macho            | 5/10 (50,00%)              | 46/74(62,16%)           | 1    |              |                     |
| IDADE            |                            |                         |      |              |                     |
| ≤ 1 ano          | 4/10 (40,00%)              | 28/74 (37,84%)          | 1,33 | 0,24 – 6,14  | 0,730 <sup>b</sup>  |
| > 1 ano          | 6/10 (60%)                 | 46/74 (62,16%)          | 1    |              |                     |
| ACESSO A RUA     |                            |                         |      |              |                     |
| Domiciliado      | 5/10 (50,00%)              | 7/74 (9,46%)            | 9,57 | 2,21 – 41,37 | 0,0006 <sup>a</sup> |
| Semidomiciliado  | 5/10 (50,00%)              | 67/74 (90,54%)          | 1    |              |                     |
| CANINOS          |                            |                         |      |              |                     |
| SEXO             |                            |                         |      |              |                     |
| Fêmea            | 11/22 (4,78%)              | 219/361 (60,67%)        | 1,51 | 0,64 – 3,57  | 0,310 <sup>a</sup>  |
| Macho            | 11/22 (7,19%)              | 142/361 (39,33%)        | 1    |              |                     |
| IDADE            |                            |                         |      |              |                     |
| ≤ 1 ano          | 2/22 (9,10%)               | 93/361 (25,76%)         | 0,28 | 0,03 – 1,25  | 0,123 <sup>b</sup>  |
| > 1 ano          | 20/22 (90,90%)             | 268/361 (74,24%)        | 1    |              |                     |
| ACESSO A RUA     |                            |                         |      |              |                     |
| Domiciliado      | 9/22 (40,90%)              | 167/361 (46,26%)        | 0,80 | 0,33 – 1,92  | 0,625 <sup>a</sup>  |
| Semidomiciliado  | 13/22 (59,10%)             | 194/361 (53,74%)        | 1    |              |                     |

<sup>a</sup> Teste qui-quadrado (p<0,05); <sup>b</sup> Teste Exato de Fisher.

Os 32 animais portadores de LV encontravam-se distribuídos em 26 das 298 (8,73%) casas visitadas, conforme visualizado na Figura 15.

No presente estudo foi possível verificar que possuir mais de um animal por domicílio aumenta em 3,46 vezes as chances de infecção por *L. infantum chagasi* (OR=3,46; IC=1,49-8,06; p=0,002). De forma distinta, não houve associação estatisticamente significativa entre as residências que apresentavam animais infectados e um maior número de habitantes por residência (Tabela 7).



**Figura 15.** Distribuição das 26 residências com animais portadores de leishmaniose visceral (estrelas vermelhas), nos diferentes bairros do município de Juazeiro – BA. Linhas em vermelho delimitam setores do município, de acordo com a Secretaria Municipal de Saúde. (Jaboticabal – SP, 2013).

**Tabela 7.** Fatores de risco para a ocorrência de leishmaniose visceral em animais de acordo com o número de animais e de habitantes por residência, no município de Juazeiro – BA. (Jaboticabal – SP, 2013). Odds ratio (OR) e respectivo intervalo de confiança (IC) a 95%. (Jaboticabal – SP, 2013).

| FATORES DE RISCO      | Casas com animais<br>portadores de LV<br>(n= 26) | Casas sem animais<br>portadores de LV<br>(n= 272) | OR   | IC          | p*    |
|-----------------------|--------------------------------------------------|---------------------------------------------------|------|-------------|-------|
| Nº de animais na casa |                                                  |                                                   |      |             |       |
| > 1 animal (n=113)    | 17 (65,38%)                                      | 96 (35,29%)                                       | 3,46 | 1,49 – 8,06 | 0,002 |
| 1 animal (n=195)      | 9 (34,62%)                                       | 176 (64,71%)                                      | 1    |             |       |
| Nº de pessoas na casa |                                                  |                                                   |      |             |       |
| > 3 pessoas (n=171)   | 17 (65,38%)                                      | 154 (56,62%)                                      | 1,45 | 0,62 – 3,36 | 0,387 |
| 1 a 3 pessoas (n=127) | 9 (34,62%)                                       | 118 (43,38%)                                      | 1    |             |       |

\* Teste qui-quadrado ( $p < 0,05$ ).

No que concerne à localização dos 26 imóveis com animais infectados por *L. infantum chagasi*, 15 (57,70%) encontravam-se a um raio de 250 metros de um único domicílio com caso de LV, enquanto os demais estavam situados ao redor de dois ou mais casos da doença humana. Residir próximo a uma casa com pessoas portadoras de LV não foi incriminado como um possível fator de risco para infecção por *L. infantum chagasi* em animais (Tabela 8). Foi observada uma diferença significativa entre os bairros no que diz respeito à presença de casas com animais portadores de leishmaniose visceral ( $p=0,015$ ) (Tabela 9).

O bairro Piranga foi o que apresentou a maior quantidade de imóveis com animais infectados por *L. infantum chagasi*, conforme visualizado na Figura 16 e na análise de Kernel, onde as áreas em vermelho (“áreas quentes”), localizadas na região norte do bairro Piranga, revelam a alta densidade de domicílios com animais portadores da doença (Figura 17).

**Quadro 4.** Número total de cães e gatos avaliados por bairro, casos humanos de leishmaniose visceral (LVH), número absoluto e percentagem (%) de animais infectados (positivo) e não infectados (negativo) no município de Juazeiro - BA, de acordo com o bairro avaliado. (Jaboticabal – SP, 2013).

| BAIRROS                                     | LVH | CÃES         |              | GATOS        |              |
|---------------------------------------------|-----|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                                             |     | Positivo (%) | Negativo (%) | Positivo (%) | Negativo (%) |
| <b>Piranga</b><br>(179 cães / 32 gatos)     | 7   | 18 (10,05%)  | 161 (89,94%) | 8 (25,00%)   | 24 (75,00%)  |
| <b>Piranga I</b><br>(20 cães / 9 gatos)     | 1   | 1 (5,00%)    | 19 (95,00%)  | 1 (11,11%)   | 8 (88,89%)   |
| <b>Padre Vicente</b><br>(37 cães / 8 gatos) | 1   | 1 (2,7%)     | 36 (97,30%)  | --           | 8 (100%)     |
| <b>Argemiro</b><br>(66 cães / 23 gatos)     | 5   | 1 (1,52%)    | 65 (98,48%)  | --           | 23(100%)     |
| <b>Quidé</b><br>(73 cães / 9 gatos)         | 6   | 1 (1,37%)    | 72 (98,63%)  | 1 (11,11%)   | 8 (88,89)%   |
| <b>Pedra do Lord</b><br>(8 cães e 3 gatos)  | 1   | --           | 8 (100%)     | --           | 3 (100%)     |
| <b>TOTAL</b><br>(383 cães / 84 gatos)       | 21  | 22 (5,74%)   | 263 (94,25%) | 10 (11,90%)  | 74 (88,10%)  |

(--) ausente.

**Tabela 8.** Distribuição e associação da distância média entre as residências com humanos com leishmaniose visceral (LVH) e casas com animais com e sem leishmaniose visceral (LV), no município de Juazeiro – BA. Odds ratio (OR) e respectivo intervalo de confiança (IC) a 95%. (Jaboticabal – SP, 2013).

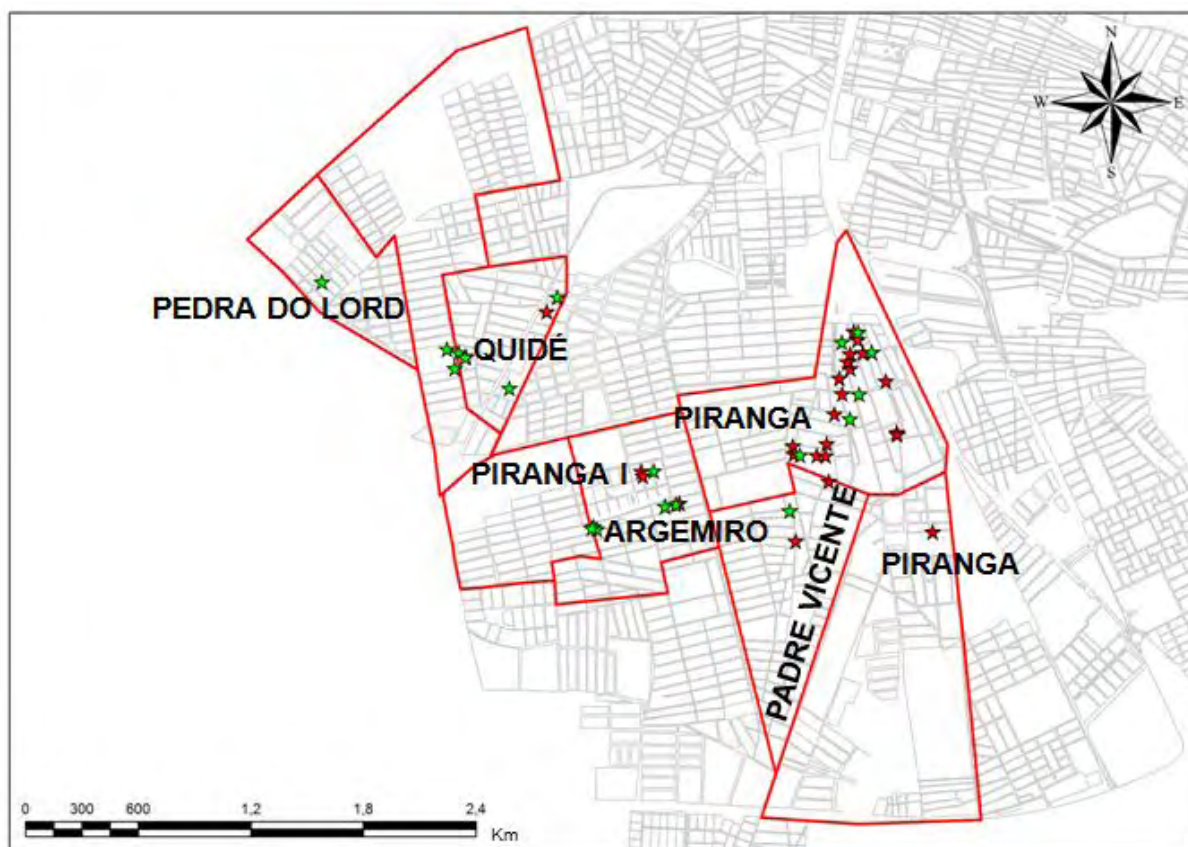
| DISTÂNCIA MÉDIA<br>LVH (metros) | Casas com<br>animais com LV<br>(n=26) | Casas com<br>animais sem LV<br>(n=272) | OR    | IC         | p*    |
|---------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------------|-------|------------|-------|
| ≤ 50 metros (n=50)              | 3 (11,54%)                            | 47 (17,88%)                            | 0,629 | 0,11 – 2,2 | 0,589 |
| > 50 metros (n=248)             | 23 (88,46%)                           | 225 (82,72%)                           | 1     |            |       |

\* Teste Exato de Fisher (p<0,05).

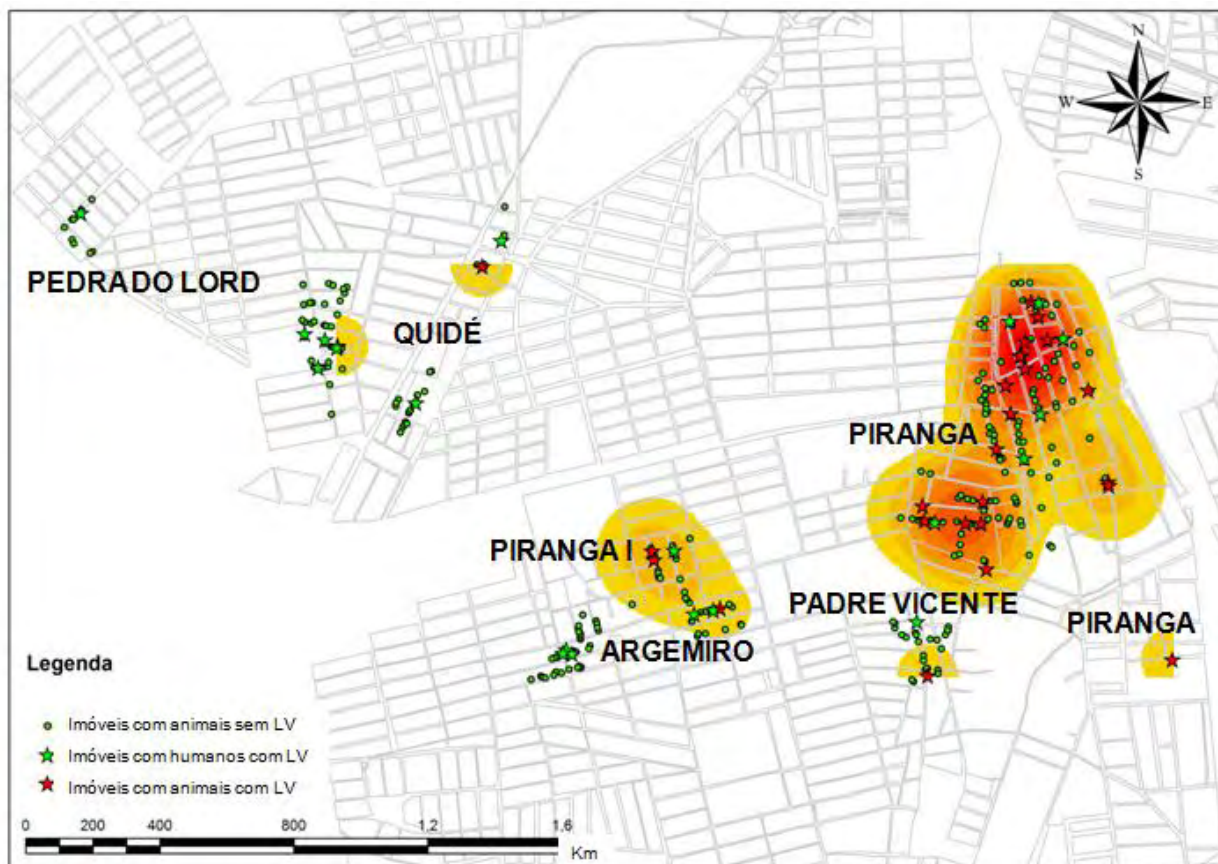
**Tabela 9.** Distribuição das casas com e sem animais portadores de leishmaniose visceral (LV), de acordo com os bairros visitados, no município de Juazeiro – BA. (Jaboticabal – SP, 2013).

| BAIRROS (casas visitadas) | Casas com animais<br>com LV (%)<br>(n=26) | Casas com animais<br>sem LV (%)<br>(n=272) | p*      |
|---------------------------|-------------------------------------------|--------------------------------------------|---------|
| Piranga (130)             | 20 (15,28%)                               | 110 (84,62%)                               | p=0,015 |
| Piranga I (22)            | 2 (9,09%)                                 | 20 (90,91%)                                |         |
| Padre Vicente (26)        | 1 (3,85%)                                 | 25 (96,15%)                                |         |
| Argemiro (52)             | 1 (1,92%)                                 | 51 (98,08%)                                |         |
| Quidé (58)                | 2 (3,45%)                                 | 56 (96,55%)                                |         |
| Pedra do Lord (10)        | - (0%)                                    | 10 (100%)                                  |         |

\* Teste de Exato de Fisher (p<0,05).



**Figura 16.** Distribuição das residências com animais (estrelas vermelhas) e seres humanos (estrelas verdes) portadores de leishmaniose visceral, nos diferentes bairros do município de Juazeiro – BA. Linhas em vermelho delimitam setores do município, de acordo com a Secretaria Municipal de Saúde. (Jaboticabal – SP, 2013).



**Figura 17.** Mapa de distribuição de Kernel para as residências com animais portadores de leishmaniose visceral, localizadas nos diferentes bairros do município de Juazeiro – BA. A graduação de cores refere-se à intensidade elevada (laranja escuro), moderada (laranja) e leve (amarelo) de ocorrência do evento (Jaboticabal – SP, 2013).

Cerca de 30% das habitações com animais com LV encontravam-se próximas aos casos 3 e 4 (mesma residência) e ao caso 5, localizados no bairro Piranga. Seis domicílios com histórico de LV (caso 9,10,15,16, 20 e 21), distribuídos entre os bairros Argemiro, Quidé e Pedra do Lord, não apresentaram ao seu redor moradias com animais portadores da doença (Quadro 5).

**Quadro 5.** Distribuição, em número e percentagem, de casas visitadas num raio de 250 metros de distância de residências com casos humanos de leishmaniose visceral (LVH), de acordo com o bairro e a presença de animais infectados (casas com LV) ou não (casas sem LV). (Jaboticabal – SP, 2013).

| LVH | BAIRRO     | CASAS VISITADAS* |              |           |
|-----|------------|------------------|--------------|-----------|
|     |            | Casas com LV     | Casas sem LV | Total     |
| 1   | Piranga    | 3 (7,30%)        | 39 (92,70%)  | 42 (100%) |
| 2   | Piranga    | 6 (26,10%)       | 17 (73,90%)  | 23 (100%) |
| 3   | Piranga    | 8 (30,77%)       | 18 (69,23%)  | 26 (100%) |
| 4   | Piranga    | 8 (30,77%)       | 18 (69,23%)  | 26 (100%) |
| 5   | Piranga    | 9 (27,27%)       | 24 (72,73%)  | 33 (100%) |
| 6   | Piranga    | 3 (10,35%)       | 26 (89,65%)  | 29 (100%) |
| 7   | Piranga    | 7 (22,58%)       | 24 (77,42%)  | 31 (100%) |
| 8   | Piranga I  | 1 (4,55%)        | 21 (95,45%)  | 22 (100%) |
| 9   | Argemiro   | -                | 23 (100%)    | 23 (100%) |
| 10  | Argemiro   | -                | 23 (100%)    | 23 (100%) |
| 11  | Argemiro   | 1 (3,12%)        | 31 (96,88%)  | 32 (100%) |
| 12  | Argemiro   | 1 (3,12%)        | 31 (96,88%)  | 32 (100%) |
| 13  | Argemiro   | 1 (3,12%)        | 31 (96,88%)  | 32 (100%) |
| 14  | P. Vicente | 1 (3,85%)        | 25 (96,15%)  | 26 (100%) |
| 15  | Quidé      | -                | 32 (100%)    | 32 (100%) |
| 16  | Quidé      | -                | 32 (100%)    | 32 (100%) |
| 17  | Quidé      | 1 (3,57%)        | 27           | 28 (100%) |
| 18  | Quidé      | 1 (4,54%)        | 21           | 22 (100%) |
| 19  | Quidé      | 1 (14,28%)       | 6            | 7 (100%)  |
| 20  | Quidé      | -                | 16           | 16 (100%) |
| 21  | P. do Lord | -                | 10           | 10 (100%) |

\*Algumas casas visitadas encontravam-se ao redor de mais de um caso de LVH; (-) ausente.

No que tange às características das residências, o tipo de construção do domicílio, o número de cômodos e a presença de quintal de terra, os mesmos não foram considerados fatores de risco para a ocorrência de LV nos animais (Tabela 10).

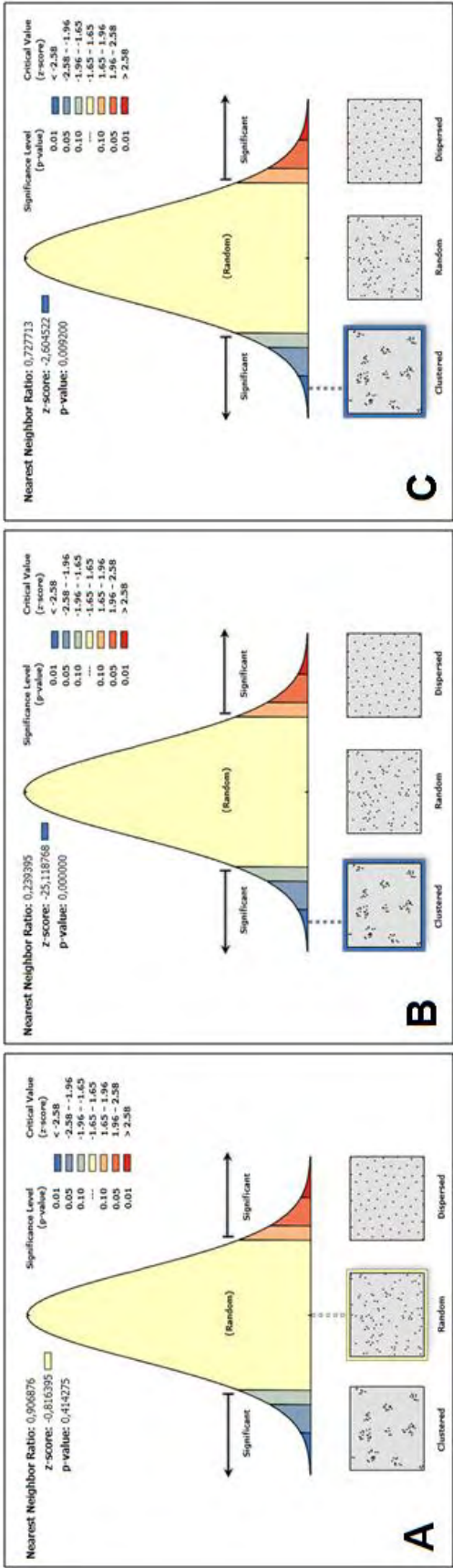
A análise de vizinhança permitiu concluir que os casos de LV humana encontram-se distribuídos aleatoriamente, porém com certa relação espacial entre eles ( $p=0,414$ ;  $z=-0,816$ ), diferente dos imóveis visitados ( $p=0,000$ ;  $z=-25,118$ ) e das casas com animais infectados ( $p=0,009$ ;  $z=-2,604$ ), que formaram aglomerados ou “clusters”, demonstrando uma associação espacial para ambas variáveis (Figura 18).

A análise de Kernel demonstrou uma maior densidade de casas com presença de galinheiros na região central do bairro Piranga, no sudoeste do bairro Argemiro e em todo o bairro Padre Vicente, visualizadas pela cor laranja escuro, denominadas “área quentes” (Figura 19). Com base na análise preditiva, é possível inferir que as áreas em vermelho, como a região nordeste do bairro Quidé, a região central do Piranga e todo o bairro Padre Vicente tendem a ser um fator de risco maior para a infecção por *L. infantum chagasi* (Figura 20).

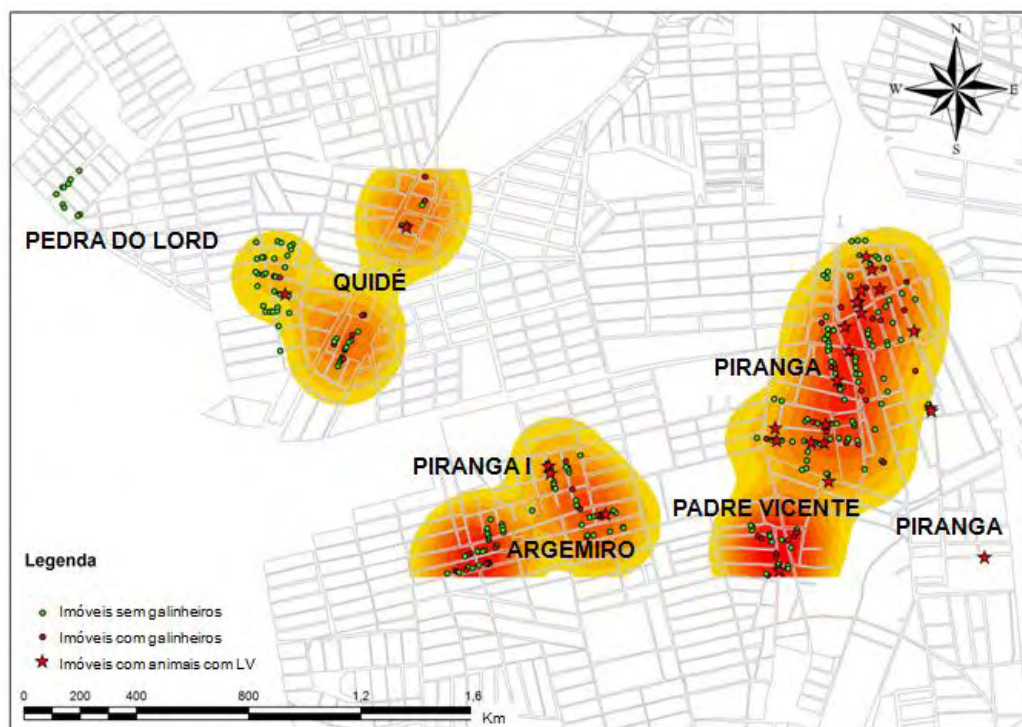
**Tabela 10.** Fatores de risco para a ocorrência de leishmaniose visceral em animais, de acordo com o tipo de construção de casas, número de cômodos e características do quintal, nas residências do município de Juazeiro – BA. (Jaboticabal – SP, 2013). Odds ratio (OR) e respectivo intervalo de confiança (IC) a 95%. (Jaboticabal – SP, 2013).

| FATORES DE RISCO    | Casas com animais<br>portadores de LV<br>(n=26) | Casas sem animais<br>portadores de LV<br>(n=272) | OR   | IC          | p                  |
|---------------------|-------------------------------------------------|--------------------------------------------------|------|-------------|--------------------|
| Construção da casa  |                                                 |                                                  |      |             |                    |
| Taipa (n=7)         | 1 (3,85%)                                       | 6 (2,20%)                                        | 1,77 | 0,04–15,32  | 0,476 <sup>b</sup> |
| Alvenaria (n=291)   | 25 (96,15%)                                     | 266 (97,70%)                                     | 1    |             |                    |
| Nº de cômodos       |                                                 |                                                  |      |             |                    |
| ≤ 3 cômodos (n=45)  | 4 (15,38%)                                      | 41 (15,00%)                                      | 1,02 | 0,24 – 3,24 | 0,966 <sup>b</sup> |
| > 3 cômodos (n=253) | 22 (84,62%)                                     | 231 (85,00%)                                     | 1    |             |                    |
| Quintal de terra    |                                                 |                                                  |      |             |                    |
| Sim (n=186)         | 17 (65,38%)                                     | 169 (62,13%)                                     | 1,15 | 0,49 – 2,68 | 0,740 <sup>a</sup> |
| Não (n=112)         | 9 (34,62%)                                      | 103 (37,87%)                                     | 1    |             |                    |

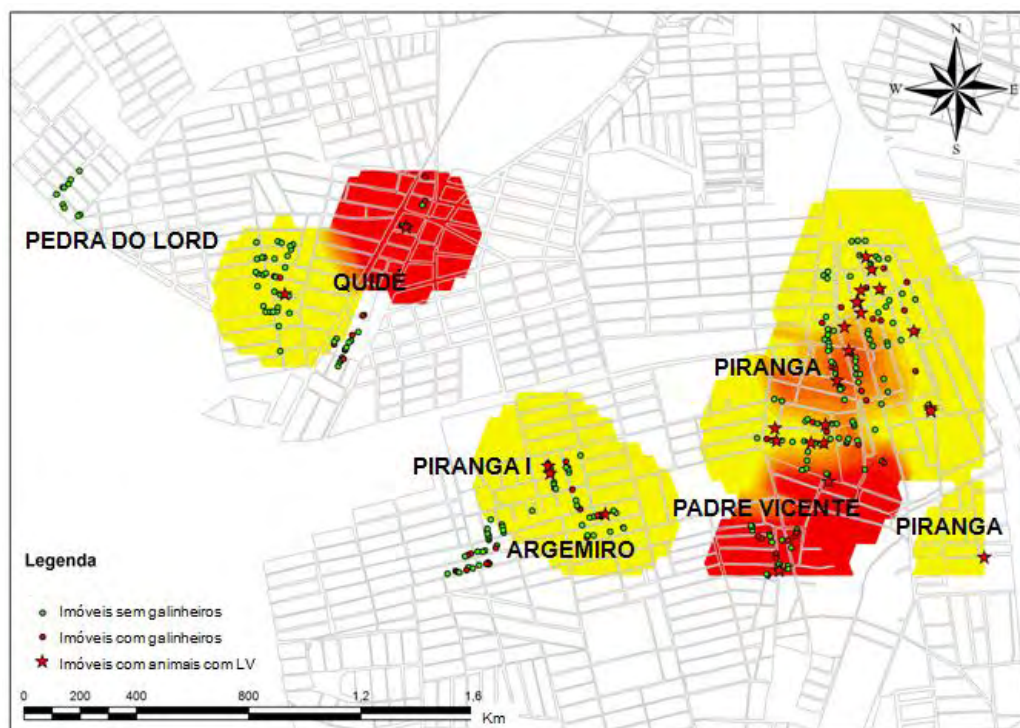
<sup>a</sup> Teste qui-quadrado ( $p<0,05$ ); <sup>b</sup> Teste Exato de Fisher.



**Figura 18.** Análise de vizinhança para avaliação da associação de proximidade das residências com humanos portadores de leishmaniose visceral (A); dos imóveis visitados (B) e dos domicílios com animais infectados (C), no município de Juazeiro - BA. Valor de p significativo para 5%. (Jaboticabal – SP, 2013).



**Figura 19.** Mapa de distribuição de Kernel para a presença de galinheiros nas residências localizadas nos diferentes bairros do município de Juazeiro – BA. A graduação de cores refere-se à intensidade elevada (laranja escuro), moderada (laranja) e leve (amarelo) de ocorrência do evento (Jaboticabal – SP, 2013).

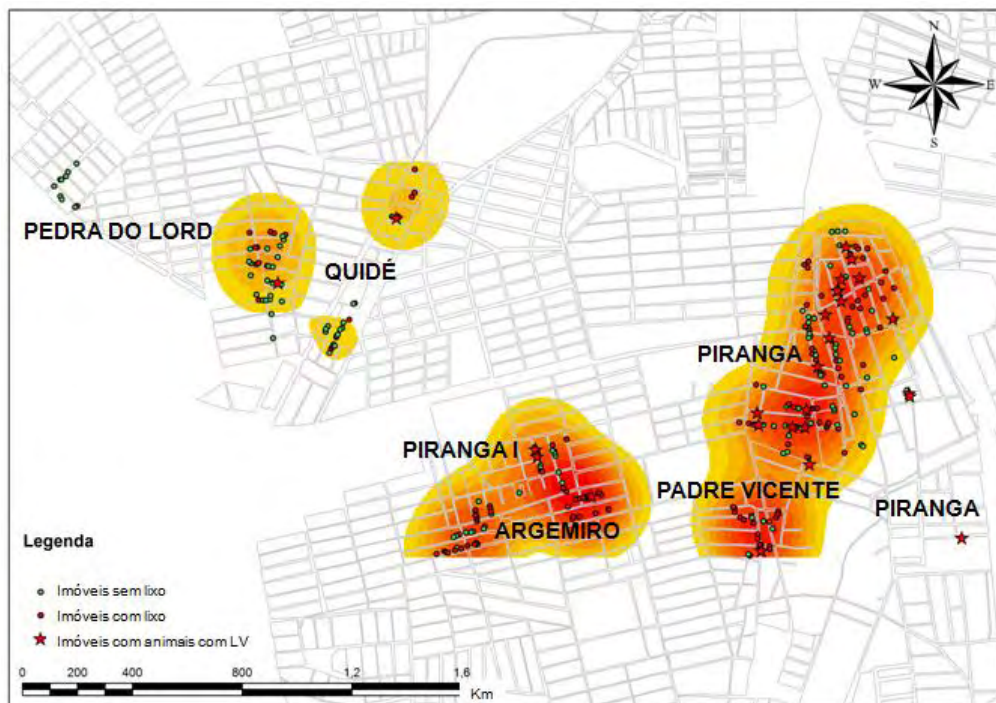


**Figura 20.** Mapa de predição de Kernel para a presença de galinheiros nas residências localizadas nos diferentes bairros do município de Juazeiro – BA. A graduação de cores refere-se ao risco intenso (laranja escuro), moderado (laranja) e leve (amarelo) de infecção por *L. infantum chagasi* (Jaboticabal – SP, 2013).

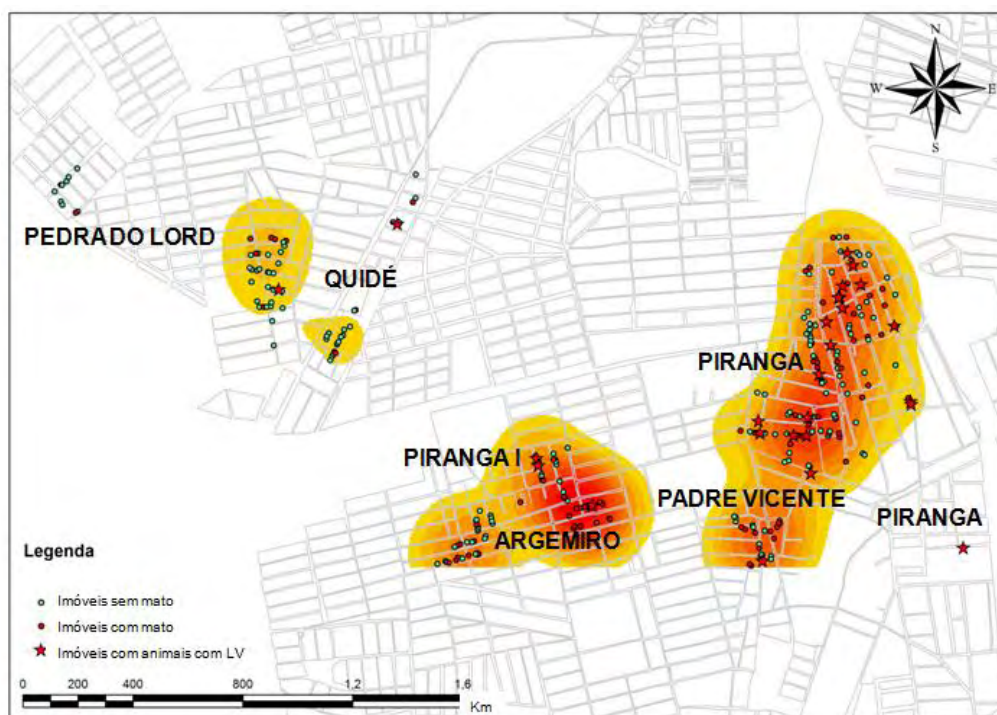
Em relação à presença de lixo, os bairros Padre Vicente, Argemiro, Piranga I, e Piranga apresentaram intensa concentração de matéria orgânica e inorgânica peridomiciliar e no interior dos imóveis, conforme observado no mapa de distribuição de Kernel (Figura 21). Esses bairros também apresentaram mato ao redor das residências, contudo, com maior intensidade no bairro Argemiro e norte do Piranga I (Figura 22). Nota-se também acúmulo de mato nos bairros Piranga e Padre Vicente, porém com menor intensidade (Figura 22). Não se observou acúmulo de lixo ou mato no bairro Pedra do Lord (Figuras 21 e 22).

No que concerne à análise preditiva para a presença de lixo e mato, observou-se que parte (nordeste, centro e sul) do bairro Piranga, a região nordeste do bairro Padre Vicente e as regiões nordeste e sudeste do bairro Argemiro apresentaram características similares, representadas pelas “áreas quentes” (em vermelho), demonstrando que esses locais tendem a cooperar com a manutenção da LV nessas regiões. Todavia, a presença de lixo apresenta áreas intensas de risco (em vermelho) em quase a totalidade da área visitada, com maior representatividade quando comparada com a presença de mato peridomiciliar (Figuras 23 e 24).

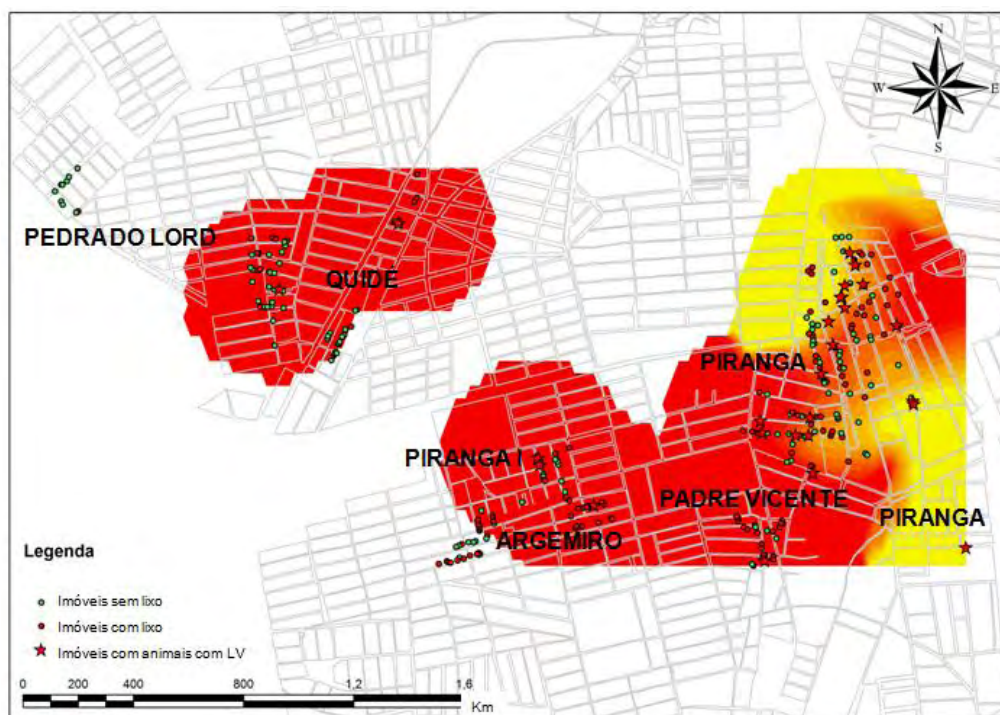
Com o auxílio da interpolação de Kernel, verificou-se uma intensa concentração de domicílios com fossas sépticas ou esgoto a céu aberto nos bairros Padre Vicente e Argemiro (Figura 25). Esses bairros apresentaram ausência de infraestrutura sanitária em 84,62% e 51,92% das residências visitadas, respectivamente. A análise preditiva de Kernel demonstrou a presença de áreas de risco (“áreas quentes”) nessas localidades e na região sudoeste do bairro Piranga (Figura 26).



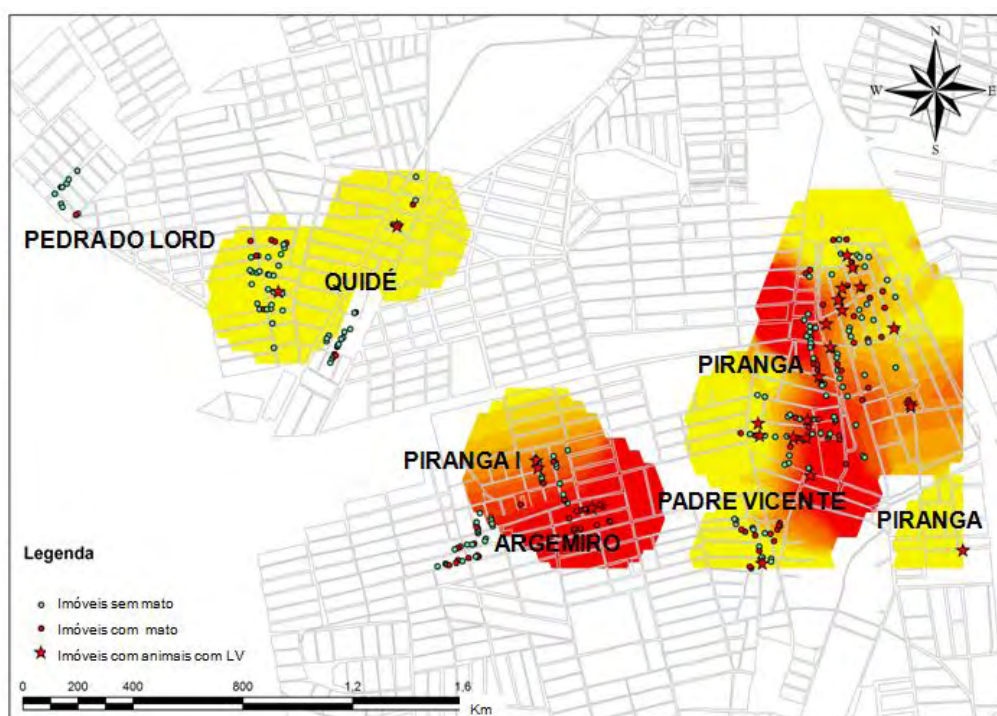
**Figura 21.** Mapa de distribuição de Kernel para a presença de lixo nas residências localizadas nos diferentes bairros do município de Juazeiro – BA. A graduação de cores refere-se à intensidade elevada (laranja escuro), moderada (laranja) e leve (amarelo) de ocorrência do evento (Jaboticabal – SP, 2013).



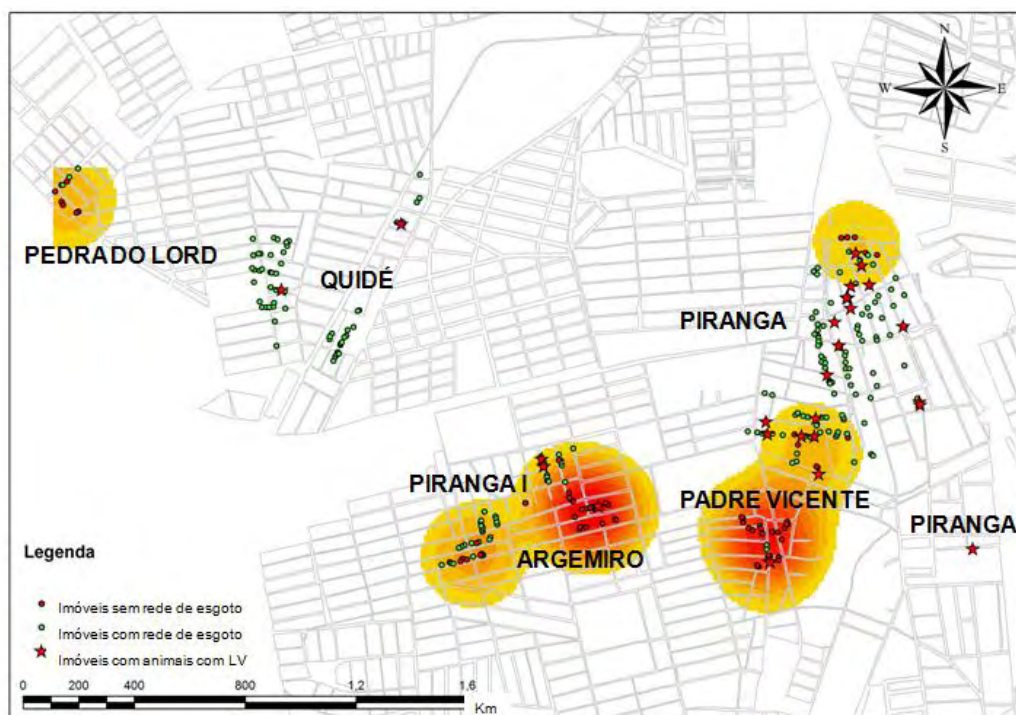
**Figura 22.** Mapa de distribuição de Kernel para a presença de mato nas residências localizadas nos diferentes bairros do município de Juazeiro – BA. A graduação de cores refere-se à intensidade elevada (laranja escuro), moderada (laranja) e leve (amarelo) de ocorrência do evento (Jaboticabal – SP, 2013).



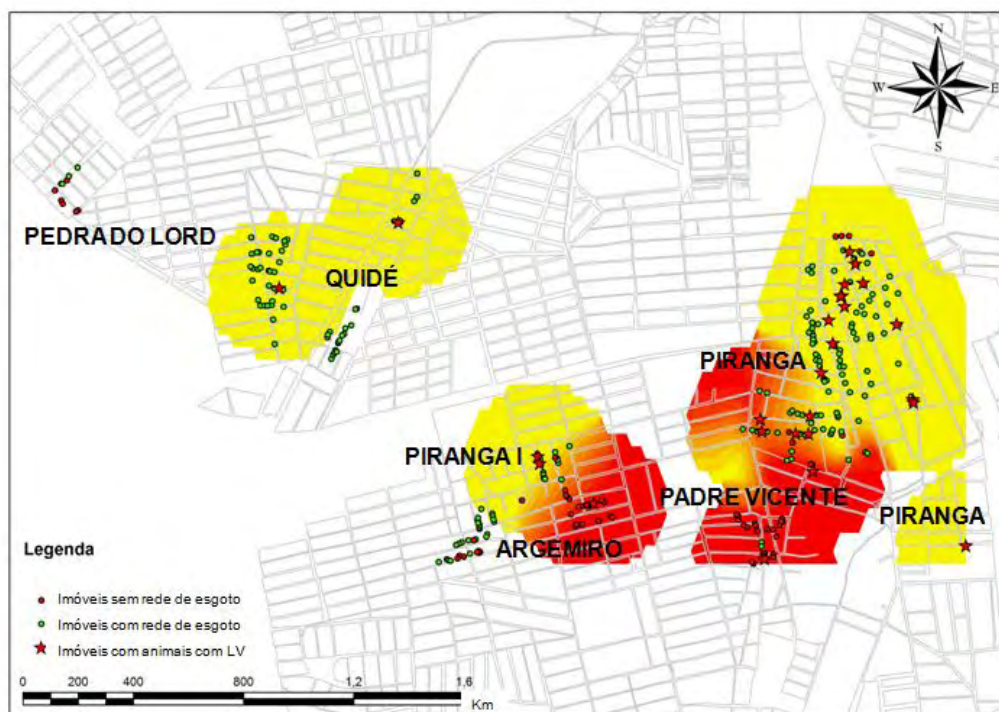
**Figura 23.** Mapa de predição de Kernel para a presença de lixo nas residências localizadas nos diferentes bairros do município de Juazeiro – BA. A graduação de cores refere-se ao risco intenso (laranja escuro), moderado (laranja) e leve (amarelo) de infecção por *L. infantum chagasi* (Jaboticabal – SP, 2013).



**Figura 24.** Mapa de predição de Kernel para a presença de mato nas residências localizadas nos diferentes bairros do município de Juazeiro – BA. A graduação de cores refere-se ao risco intenso (laranja escuro), moderado (laranja) e leve (amarelo) de infecção por *L. infantum chagasi* (Jaboticabal – SP, 2013).



**Figura 25.** Mapa de distribuição de Kernel para a ausência de esgoto canalizado nas residências localizadas nos diferentes bairros do município de Juazeiro – BA. A graduação de cores refere-se à intensidade elevada (laranja escuro), moderada (laranja) e leve (amarelo) de ocorrência do evento (Jaboticabal – SP, 2013).



**Figura 26.** Mapa de predição de Kernel para a ausência de esgoto canalizado nas residências localizadas nos diferentes bairros do município de Juazeiro – BA. A graduação de cores refere-se ao risco intenso (laranja escuro), moderado (laranja) e leve (amarelo) de infecção por *L. infantum chagasi* (Jaboticabal – SP, 2013).

## 6. DISCUSSÃO

Embora seja comum na região nordeste do Brasil a criação de cabras para auxiliar na subsistência das famílias, e o uso de muares e equinos como meio de transporte e de tração, caprinos, ovinos e equídeos compuseram apenas 3,2% da população de animais deste estudo. A maior parte foi composta por cães (76,91%) e gatos (16,87%), diferindo de estudos semelhantes conduzidos no Nepal, Índia e Sudão, onde as populações eram constituídas quase que exclusivamente por animais de grande porte e de produção (MUKHTAR et al., 2000; BHATTARAI et al., 2010; KHANAL et al., 2010; SINGH et al., 2013).

A prevalência da LV na população estudada foi de 6,43%, inferior à 13,3% e 21,6% verificadas no Nepal (BHATTARAI et al., 2010; KHANAL et al., 2010), à 26,67% no Sudão (MUKHTAR et al., 2000), e superior à encontrada na Índia, onde 2,7% dos animais apresentavam anticorpos anti-*Leishmania* sp. ou DNA do parasita no sangue (SINGH et al., 2013).

A prevalência de gatos sororeagentes, próxima a 12%, foi semelhante à observada em áreas endêmicas no estado de São Paulo (COSTA et al., 2010) e na Espanha (SHERRY et al., 2011). Apesar de 10 gatos apresentarem anticorpos séricos anti-*Leishmania* sp., em nenhum animal foi amplificado o DNA do parasita no sangue. Embora a técnica de PCR em tempo real seja mais sensível do que a PCR convencional, e considerada o método mais confiável para o diagnóstico de leishmaniose visceral (PALTRINIERI et al., 2010), nem sempre se detecta o DNA do parasita no sangue. A qPCR de amostras sanguíneas é mais indicada nas fases iniciais da doença, quando ocorre parasitemia e ainda não houve a produção de anticorpos (PALTRINIERI et al., 2010). Por essa razão, optou-se por realizar a investigação sorológica e a pesquisa do DNA do parasita no sangue de todos os animais avaliados.

A ocorrência de anticorpos anti-*Leishmania* sp. na população canina do presente estudo foi de 5,22%, inferior a 12,1%, relatada em área endêmica do sudeste do Brasil (CAMARGO-NEVES et al., 2001), 18,4% e 21,7% em municípios da região metropolitana de Salvador (BARBOZA et al., 2006; JULIÃO et al., 2007) e 40,3% e 43% observadas na cidade de Paulista (PE) e Belém (PA), respectivamente (DANTAS-TORRES et al., 2006; SILVEIRA et al., 2012).

No município de Juazeiro não há estudos prévios de soroprevalência de LV em cães, e apenas um inquérito sorológico foi realizado entre os anos de 2007 e 2008, onde 2,15% (98/4568) dos cães apresentaram sororeatividade, valor este inferior ao verificado no presente estudo (5,22%)<sup>1</sup>. Mesmo não realizando a investigação da doença em cães provenientes de todos os setores do município, e avaliando uma quantidade menor de animais do que o inquérito anteriormente realizado, a soroprevalência no presente estudo foi o dobro da anteriormente citada, podendo indicar um aumento real nas taxas de prevalência da doença na população canina. Apenas dois dos 383 cães apresentaram DNA do parasita no sangue, sem anticorpos séricos anti-*Leishmania* sp. Estes provavelmente encontravam-se em uma fase inicial da doença. Se considerarmos ainda estes dois animais, a ocorrência da doença na população canina eleva-se para 5,75%.

No que concerne às outras espécies testadas, nenhum dos 32 animais apresentou anticorpos anti-*Leishmania* sp. ou DNA do parasita no sangue, contrapondo-se aos estudos realizados no Sudão, Nepal e Índia (MUKHTAR et al., 2000; KHANAL et al., 2010; SINGH et al., 2013). Enquanto no Sudão foram verificados anticorpos séricos em 68,75% (66/96) dos burros, 21,4% (9/42) das vacas e 8,5% (5/59) das cabras (MUKHTAR et al., 2000); no Nepal 23,1% (33/143) dos caprinos, 22,7% (5/22) dos bubalinos e 10% (2/20) dos bovinos eram sororreagentes (KHANAL et al., 2010). Por outro lado, na Índia as taxas de sororeatividade foram da ordem de 3,57% (31/867) em cabras e 0,62% (1/61) em vacas (SINGH et al., 2013). Entretanto, os estudos supracitados foram realizados em regiões onde a LV é causada pela *L. donovani*, antroponótica e transmitida principalmente pelo *Phlebothomus argentipes*, diferente do observado no Brasil, que tem como agente etiológico a *L. infantum chagasi*, transmitida na maior parte do país pela *Lutzomyia longipalpis* (BANETH ; SOLANO-GALLEGO, 2012).

Apesar de Julião (2011), ter sugerido que os bovinos podem atuar como reservatório da LV, em um estudo conduzido na Bahia, e Feitosa et al. (2013) terem identificado equinos sororreagentes em área endêmica para LV no estado de São Paulo, os resultados do presente estudo sugerem que os animais de produção ou de grande porte não fazem parte do ciclo epidemiológico da doença na região estudada. Apesar de terem sido avaliados todos os animais que residiam na área

---

<sup>1</sup> MACHADO, M.S.O. (Diretor da Secretaria de Promoção e Vigilância a Saúde do município de Juazeiro-BA). Comunicação oral, 2012.

estudada, a população de animais de produção ou de grande porte era pequena, o que pode ter influenciado nos resultados obtidos. Por outro lado, estes viviam em áreas de ocorrência de casos humanos e animais (cães e gatos), o que poderia elevar as chances de infecção.

A soroprevalência em gatos (11,90%) foi aproximadamente o dobro da de cães (5,75%), e estes possuíam duas vezes mais chances de se tornarem infectados do que cães, salientando a importância da investigação desses animais no ciclo epidemiológico da LV. Uma elevada prevalência de infecção em gatos em áreas endêmicas para LV também foi relatada por Sobrinho et al. (2012), em Araçatuba, São Paulo, onde a taxa foi de 15,23% em uma população de 302 gatos.

Apesar da baixa taxa de prevalência da doença na população canina avaliada, esses animais são importantes reservatórios de *L. infantum chagasi* (BANETH ; SOLANO-GALLEGO, 2012) e a presença de cães infectados no ambiente pode estar associada com a LV em humanos (OLIVEIRA et al., 2001), contribuindo para a expansão e manutenção da doença. Provavelmente, as baixas taxas de soroprevalência canina obtidas no presente estudo podem ter sido influenciadas pela prévia eliminação de animais infectados, realizada pelo Centro de Controle de Zoonoses<sup>2</sup> de Juazeiro (BA). Além disso, com a ausência de posse responsável e maus tratos, a expectativa de vida desses animais é baixa, sendo freqüente a reposição de cães na região estudada. De acordo com Andrade et al. (2007), a reposição desses animais em áreas endêmicas para LV costuma ser rotineira e geralmente é realizada com animais jovens, mais susceptíveis à infecções.

A elevada percentagem de gatos sororreagentes torna-se preocupante, uma vez que a resposta imune humoral de gatos à infecção por *L. infantum chagasi* não é um bom indicativo de infecção, já que muitos animais, mesmo infectados, mantêm-se sorologicamente negativos. Vides et al. (2011), avaliando 27 gatos naturalmente infectados, confirmaram o diagnóstico de LV em cinco deles apenas por imunoistoquímica de lesões cutâneas. Nestes, a sorologia e o exame parasitológico direto de órgãos linfóides não permitiram a confirmação da doença. Desse modo, fica evidente que o número real de gatos infectados pode estar sendo subestimado.

---

<sup>2</sup> MACHADO, M.S.O. (Diretor da Secretaria de Promoção e Vigilância a Saúde do município de Juazeiro-BA). Comunicação oral, 2012.

Apesar de ainda não ser conhecido o papel dos gatos na cadeia epidemiológica da leishmaniose visceral, por meio de xenodiagnóstico já foi comprovada a capacidade desta espécie em infectar vetores (MAROLI et al., 2007; SILVA et al., 2010).

A ocorrência de LV em gatos já foi relatada em animais com idade variando de três meses a 17 anos (NASEREDDIN et al., 2008; CARDOSO et al., 2010). No presente estudo a faixa etária não influenciou na ocorrência da enfermidade em gatos, confirmando os achados de Solano-Gallego et al. (2007) e Sobrinho et al. (2012), e contrapondo-se ao achados de Cardoso et al. (2010), os quais verificaram uma maior predisposição em animais com idade superior a dois anos. Também não foi verificada uma predisposição sexual, corroborando os relatos de Solano-Gallego et al. (2007) e Sherry et al. (2011). De forma contrária, Cardoso et al. (2010) e Sobrinho et al. (2012) verificaram uma maior predisposição à infecção em machos.

Os gatos domiciliados apresentaram um risco dez vezes maior de tornarem-se sororreativos quando comparados com os felinos semidomiciliados. Uma possível explicação para este fato pode estar relacionada às características das residências destes animais. Quatro dos seis gatos domiciliados residiam na mesma casa, que possuía lixo e mato peridomiciliar. Nas casas dos outros dois animais existia também acúmulo de lixo e matéria orgânica, o que permite o desenvolvimento de flebotomíneos no ambiente (FELICIANGELLI, 2004). Por outro lado, nos locais de residência de três dos quatro gatos com livre acesso a rua não havia lixo ou mato peridomiciliar. Como o escopo deste estudo não foi avaliar a presença de *Lutzomyia longipalpis* nas moradias, não foi possível confirmar tal suspeita. Estes resultados discordam dos achados de Ayllon et al. (2008) e Cardoso et al. (2010), que não verificaram diferença entre a ocorrência de leishmaniose em gatos que viviam no interior das residências e em animais semidomiciliados, na Espanha e Portugal, respectivamente. Outro fator importante é que os proprietários de gatos domiciliados exercem a posse responsável de seus animais, o que aumenta a expectativa de vida dos mesmos. Em contrapartida, esses felinos podem apresentar um risco maior em adquirir a doença por estarem expostos por mais tempo aos flebotomíneos.

Em relação aos cães, não houve predisposição etária para a ocorrência da doença quando os mesmos foram subdivididos em dois grupos, entre seis meses e um ano e com mais de 12 meses de idade. Apesar de a literatura afirmar que cães com menos de três anos e entre oito e dez anos apresentarem uma maior predisposição para adquirir a infecção (PALTRINIERI et al., 2010), não foi possível

determinar com precisão a idade dos animais com mais de 12 meses no presente estudo, porque os proprietários não conseguiam fornecer esta informação, e a avaliação da arcada dentária nem sempre era possível ou fidedigna. Shang et al. (2011), utilizando a mesma classificação do presente estudo, detectaram um risco 2,4 vezes maior em cães com idade superior a um ano, atribuindo a maior prevalência nos animais mais velhos devido ao maior tempo de exposição ao vetor.

Não foi verificada uma predisposição sexual para a ocorrência de LV nos cães do presente estudo, confirmando os achados de França-Silva et al. (2003), Coura-Vital et al. (2011), Cortes et al. (2012) e Silveira et al. (2012). Apesar destes resultados, estudos prévios sugeriram uma maior predisposição em machos (DANTAS-TORRES et al., 2006; JULIÃO et al., 2007; MIRANDA et al., 2008). Embora algumas raças de cães sejam mais predispostas ao desenvolvimento da doença (FRANÇA-SILVA et al., 2003; MIRANDA et al., 2008; BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2012), não foi possível avaliar esta variável na presente população pois apenas 16,97% dos cães tinham definição racial.

Para a população canina, não houve associação entre o acesso livre à rua e a infecção pelo parasita, discordando de Gálvez et al. (2010), que estimaram um risco três vezes maior da doença em cães semidomiciliados, quando comparado com animais domiciliados.

Aproximadamente 65% (17/26) das casas com animais infectados também possuíam outros animais no domicílio, confirmando aos achados de Moreira Jr. et al. (2003) e Azevedo et al. (2008), em estudos prévios conduzidos no Brasil, que associaram um aumento no risco de infecção em cães que conviviam com outros animais. De forma inversa, Silva et al. (2012), não correlacionaram a presença de cães sororeagentes a outros animais domésticos. Contudo, é importante ressaltar que quando os autores consideraram apenas a presença de gatos nas moradias o risco de infecção em cães elevou-se em 58%, quando comparado com os domicílios sem felinos. Estudos pretéritos também correlacionaram o maior risco de seres humanos tornarem-se portadores de LV com a presença de cães na residência (BORGES et al., 2009; FAYE et al., 2011). Em uma pesquisa realizada em Petrolina (PE), Cesse et al. (2001), verificaram que o vetor da LV foi encontrado em maior número na região peridomiciliar das residências, em locais onde havia a presença de animais.

O convívio com mais de um animal, independente da espécie, elevou em 3,46 vezes as chances de infecção por *L. infantum chagasi*, concordando com os achados de Borges et al. (2009), que verificaram que o risco de infecção em humanos que conviviam com dois cães foi três vezes maior que aqueles que não possuíam animais.

Animais que vivem até 50 metros de distância de residências com histórico de pessoas portadores de LV não apresentaram risco maior para a infecção por *L. infantum chagasi*. Estes resultados divergem das observações de Bhattarai et al. (2010), os quais verificaram, em um estudo realizado no Nepal, que residências distantes a menos de 22,8m de casas com animais infectados por *L. donovani* apresentavam 37% de probabilidade de apresentar indivíduos infectados. Em outro estudo realizado em Bangladesh, Bern et al. (2005), verificaram que seres humanos que viviam a até 50 metros de distância de indivíduos infectados por *L. donovani* possuíam três vezes mais chance de adquirir a doença do que pessoas que viviam fora deste raio. No entanto, há que se considerar que o agente etiológico nos dois estudos possui características antroponóticas, e não zoonóticas como a *L. infantum chagasi* (BANETH ; SOLANO – GALLEGOS, 2012)

Quando se avalia a distribuição espacial de casos de LV em animais nos diferentes bairros, também é possível verificar que aparentemente não há uma correlação entre estes e a proximidade com casos humanos da doença. O bairro Piranga foi o que concentrou o maior número de casos da doença, onde residiam 82% (18/22) dos cães e 80% (8/10) dos gatos infectados. Na mesma região foram identificados os dois cães com resultados de PCR positivo para LV. Apesar de este bairro possuir o maior número de casos humanos da doença (sete pacientes), no bairro Quidé foram identificados seis pacientes com LV e apenas dois casos da doença em animais (um cão e um gato). Desta forma, a ocorrência da doença em animais parece estar relacionada a outros fatores inerentes ao ambiente, conforme observado por Bigeli et al. (2012), em um estudo conduzido em Palmas (TO).

Por apresentar uma dispersão dos casos de LV em humanos dentro do bairro, o número de residências visitadas no Piranga correspondeu a mais de 40% do total do estudo e, conseqüentemente, este foi o bairro com a colheita de um maior número de amostras de animais (43%). Outro fator a ser considerado é o tamanho da população do bairro Piranga (9564 habitantes), que chega a ser aproximadamente o dobro de outros, tais como Padre Vicente (5568 habitantes),

Argemiro (5260 habitantes) e Quidé (5424 habitantes). Apesar de o número elevado de pessoas por residência não ter sido identificado como um fator de risco para a infecção em animais neste estudo, nota-se que o bairro Piranga possui quase duas vezes a população do Quidé, distribuída praticamente no mesmo número de casas (2300 em cada bairro), sugerindo que este seja um fator a mais a ser considerado quando da avaliação das características do local. Costa et al. (2005), ao avaliarem os fatores de risco para humanos adquirirem LV em Teresina (PI), verificaram que morar em uma casa com mais de quatro pessoas triplicava o risco de adquirir a doença.

O tipo de construção da residência não constituiu um fator de risco para a infecção por *L. infantum chagasi* na população animal estudada, concordando com um estudo conduzido por Coura-Vital et al. (2011), no Brasil. Há que se salientar que as residências avaliadas no presente estudo apresentavam características estruturais semelhantes, sendo a maioria de alvenaria, no entanto mal rebocadas. Apenas sete, das 298 casas visitadas, eram de taipa. Um estudo realizado na Índia comprovou que a chance de ocorrência de LV em pessoas que viviam em casas rebocadas com lama era 2,4 superior do que em indivíduos que residiam em casas rebocadas com cimento (RANJAN et al., 2005). A presença de paredes de lama são favoráveis para a reprodução e manutenção do flebotomíneo (KESARI et al., 2010). Fendas e rachaduras nas paredes desses domicílios pode aumentar em aproximadamente duas vezes o risco de infecção em seres humanos (BERN et al., 2000), por ser um ambiente onde podem ser encontradas formas imaturas dos flebotomíneos (FELICIANGELLI, 2004).

Bern et al. (2000), avaliando uma área endêmica para leishmaniose visceral no Nepal, verificaram que as características das residências indicativas de uma melhor condição socioeconômica, tais como possuir três ou mais cômodos, estavam associadas a um efeito protetor para a ocorrência de LV, fato que não foi observado no presente estudo. Na região estudada, as casas com um maior número de cômodos nem sempre eram as que possuíam um melhor acabamento ou indicavam uma maior poder aquisitivo por parte dos proprietários. Das 199 casas sem presença de forro no teto, cerca de 70% possuíam de quatro a sete cômodos, enquanto quase 47% das 32 residências com banheiro fora da casa também possuíam de quatro a sete cômodos. O mesmo ocorreu em relação à presença de quintal de terra nas residências, que não constituiu um fator de risco para LV. No bairro Piranga, que

apresentou o maior número de casos da doença tanto em humanos quanto em animais, aproximadamente 44% das casas possuía quintal cimentado. Diferente do observado por Azevedo et al. (2008) em Poxoréo, no estado do Mato Grosso, onde 96% dos quintas das residências avaliadas era de terra, em Juazeiro esta percentagem foi de 65%.

Alguns proprietários possuíam o hábito de criar galinhas na região peridomiciliar, tanto para o consumo próprio como para fins comerciais. Embora não tenha sido observada uma diferença entre os diversos bairros quanto à presença de galinheiros nas moradias, os bairros Padre Vicente, Quidé e a parte central do bairro Piranga foram consideradas, pela análise de Kernel, áreas de alto risco para a ocorrência de LV em cães e gatos quando associadas com a presença de aves nas moradias. Estes resultados confirmam as observações de Bigeli et al. (2012), que associaram a ocorrência da doença em cães e a presença de aves nas moradias, e de Moreira Jr. et al. (2003), que verificaram que cães que conviviam com aves possuíam um risco relativo três vezes maior de contraírem LV. Apesar de as galinhas não serem capazes de manter uma infecção por *L. infantum chagasi*, são importantes por atraírem os flebotomíneos (ALEXANDER et al., 2002; OTRANTO et al., 2010). Apesar de não ter sido escopo do presente estudo, a presença de animais silvestres no município também pode contribuir para a manutenção da doença, conforme salientado por Baneth e Solano – Gallego (2012).

Conforme observado pelo mapa de predição de Kernel, a presença de lixo nas residências foi considerado um fator de risco intenso para a ocorrência de LV em quase todas as áreas avaliadas, similar ao descrito por Bigeli et al. (2012), em um estudo conduzido em Palmas (TO). Isto ocorreu provavelmente porque os vetores realizam oviposição e desenvolvem-se em áreas ricas em matéria orgânica, como relatado por Killick-Kendrick (1990) e Feliciangelli (2004).

De forma divergente, outros autores não verificaram uma correlação entre a presença de matéria orgânica nas residências (SILVA et al., 2012) ou a coleta pública de lixo e a ocorrência da doença canina (AZEVEDO et al., 2008; COURA-VITAL et al., 2011). Entretanto, nos locais avaliados por Azevedo et al. (2008) e Coura-Vital et al. (2011), a coleta de lixo era realizada de uma a três vezes por semana e os autores não mencionaram a existência de lixo nos quintais e ruas. No município de Juazeiro, mesmo com coleta pública de lixo pelo menos duas vezes por semana, a população possui o hábito de jogar os dejetos nas ruas, terrenos

baldios e ao redor das residências, sendo possível observar o acúmulo de matéria orgânica, resto de madeiras, móveis ou materiais de construção na maior parte dos bairros visitados. Essa prática contribui para a manutenção da LV no município, conforme sugerido por Cesse et al. (2001), que verificaram que a doença em humanos estava associada às práticas supracitadas em bairros periurbanos de Petrolina (PE). Costa et al. (2005), também observaram um maior risco de infecção em humanos que residiam em casas sem coleta de lixo regular e saneamento básico adequado.

A presença de mato peridomiciliar foi evidente em 39,26% das residências visitadas e esteve associada a um risco intenso de infecção dos animais que residem no bairro Argemiro, e em parte dos bairros Piranga e Padre Vicente, discordando dos relatos de Ranjan et al. (2005) que não verificaram tal associação em um estudo conduzido em humanos, na Índia. Diferente de Almeida et al. (2009) e Barbosa et al. (2010), que associaram casos da doença canina com a presença de mata nas proximidades das residências, no presente estudo não se tratava de mata, no sentido de floresta ou bosque, mas sim de locais com jardins ou com árvores frutíferas, geralmente mal cuidados, não adequadamente limpos e com presença de matéria orgânica vegetal em decomposição. Normalmente, fêmeas de flebotomíneos depositam seus ovos em solo úmido e com alto teor de matéria orgânica (BRASIL, 2006), sendo estes ambientes ricos em formas imaturas de flebotomíneos (FELICIANGELLI, 2004).

A distribuição espacial permitiu verificar que a ausência de esgoto canalizado pode constituir um importante sinalizador para a infecção por *L. Infantum chagasi* em animais que vivem nos bairros Argemiro, Padre Vicente e parte sudoeste do bairro Piranga. É importante ressaltar que a análise dos dados sem levar em consideração a distribuição espacial dos casos de infecção em animais não leva a essas conclusões, uma vez que o bairro Piranga possuía apenas 10% das casas com ausência de esgoto e no Argemiro a proporção entre casas com e sem rede de esgoto era praticamente a mesma. No entanto, por meio do mapa de predição de Kernel fica evidente a importância dessa variável na manutenção da doença em algumas áreas do município. Fato semelhante também foi verificado por Bigeli et al. (2012), que associaram a ocorrência da doença canina com a falta de rede de esgoto, em Palmas (TO). De forma similar, Cerbino-Neto et al. (2009) e Costa et al. (2005), em Teresina (PI), também verificaram uma alta incidência de LV em seres

humanos que residiam em casas sem infraestrutura sanitária adequada.

A análise espacial da ocorrência da LV em animais no município de Juazeiro permitiu verificar que o bairro Piranga foi a região com o maior número de casos (81%), associados a uma elevada intensidade de risco da doença pela presença principalmente de lixo e mato, e em menor intensidade, de esgoto a céu aberto e criação de galinhas. Entretanto, áreas com elevado risco para a ocorrência da doença, tais como os bairros Padre Vicente e Quidé devido à presença de galinhas; Padre Vicente, Argemiro, Piranga I, Quidé e Pedra do Lord pela presença de lixo; Argemiro pela presença de mato; e os bairros Argemiro e Padre Vicente pela ausência de esgoto canalizado, não apresentavam casos de LV em animais (Pedra do Lord), ou possuíam apenas um (Padre Vicente e Argemiro) a dois (Piranga I e Quidé) casos. Contudo, estes resultados permitem predizer que novos focos da doença poderão ser observados nestes bairros, e que a implementação de medidas de controle e prevenção da LV são imprescindíveis. Mais ainda, deve-se ressaltar uma provável participação dos gatos no ciclo epidemiológico da doença no município, que podem estar atuando como sinalizadores da LV no ambiente. Esse fato salienta a necessidade de novos estudos e da implementação de medidas para o controle e a prevenção da doença nesta espécie animal, que tem sido considerada por muitos como um hospedeiro secundário da *L. infantum chagasi*, e não como um hospedeiro acidental (GRAMICCIA ; GRADONI, 2005; SOLANO-GALLEGO et al., 2007).

## 7. CONCLUSÃO

Os resultados, nas condições do presente estudo, permitiram concluir que:

1. A ocorrência da leishmaniose visceral na população animal estudada foi de 6,42% (32/498), correspondendo a 11,90% (10/84) da população de gatos e a 5,75% (22/383) da população de cães;
2. Não foi detectada a presença de anticorpos anti-*Leishmania* sp. ou de DNA do parasita em amostras sanguíneas de caprinos, ovinos e eqüídeos;
3. Os gatos apresentaram duas vezes mais chances de tornarem-se portadores de leishmaniose visceral do que os cães avaliados no presente estudo e podem servir como sinalizadores da doença no ambiente, contudo, o papel dos mesmos na cadeia epidemiológica da LV deve ser melhor investigado;
4. Os felinos domiciliados apresentaram um risco aproximadamente 10 vezes maior de infectarem-se com o parasita quando comparados com os gatos semidomiciliados;
5. O tipo de construção das residências, o número de cômodos, o calçamento do quintal e o número de pessoas por residência não constituíram um fator de risco para a infecção por *L. infantum chagasi* na população animal estudada;
6. Possuir mais de um animal por domicílio aumentou em 3,46 vezes as chances de infecção por *L. infantum chagasi*;
7. A criação de aves, a presença de lixo e mato peridomiciliar, e a ausência de infra-estrutura sanitária podem atuar como importantes fatores de risco para a manutenção e expansão da leishmaniose visceral no município de Juazeiro (BA).

## 8. REFERÊNCIAS \*

AFONSO, M. M. S.; DUARTE, R.; MIRANDA, J. C.; CARANHA, L.; RANGEL, E. F. Studies on the feeding habits of *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: *Phlebotominae*) populations from endemic areas of american visceral leishmaniasis in northeastern Brazil. **Journal of Tropical Medicine**, New York, v. 2012, n. 2012, p. 1-5, 2012.

ALEXANDER, B.; CARVALHO, R. L.; MCCALLUM, H.; PEREIRA, M. H. Role of the domestic chicken (*Gallus gallus*) in the epidemiology of urban visceral leishmaniasis in Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 8, n. 12, p. 1480-1485, 2002.

ALMEIDA, A. B. P. F.; MENDONÇA, A. J.; SOUSA, V. R. F. Prevalência e epidemiologia da leishmaniose visceral em cães e humanos, na cidade de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 7, p. 1610-1615, 2010.

ALVAR, J.; VÉLEZ, I. D.; BERN, C.; HERRERO, M.; DESJEUX P.; CANO J.; JANNIN, J.; BOER, M.; WHO LEISHMANIASIS CONTROL TEAM. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 7, n. 5, p. 1-12, 2012.

ALVAR, J.; YACTAYO, S.; BERN, C. Leishmaniasis and poverty. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 22, n. 12, p. 552-557, 2006.

ANDRADE, A. M.; QUEIROZ, L. H.; NUNES, G. R.; PERRI, S. H. V.; NUNES, C. M. Reposição de cães em área endêmica para leishmaniose visceral. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 40, n. 5, p. 594-595, 2007.

ANTONIALLI, S.A.C.; TORRES, T.G.; PARANHOS FILHO, A.C.; TOLEZANO, J.E. Spatial analysis of American Visceral Leishmaniasis in Mato Grosso do Sul State, Central, Brasil. **Journal of Infection**, London, v. 54, n. 5, p. 509-514, 2006.

ARAÚJO, J. C.; REBÊLO, J. M. M.; CARVALHO, M. L.; BARROS, V. L. L. Composição dos flebotomíneos (Diptera, *Psychodidae*) do município da Raposa – MA, Brasil. Área endêmica de leishmanioses. **Entomologia y Vectores**, Rio de Janeiro, v. 7, p. 33-47, 2000.

---

\* ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 6023: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002, 23 p.

ASHFORD, R. W. Leishmaniasis reservoirs and their significance in control. **Clinics in Dermatology**, Philadelphia, v. 14, n. 5, p. 523 – 532, 1996.

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

ASSUNÇÃO, R. M. **Estatística Espacial com Aplicações em Epidemiologia, Economia e Sociologia**. São Carlos: Associação Brasileira de Estatística, 2001. p.1-131.

AZEVEDO, M. A.; DIAS, A. K.; PAULA, H. B.; PERRI, S. H. V.; NUNES, C. M. Avaliação da leishmaniose visceral canina em Poxoréo, estado do Mato Grosso, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 17, n. 3, p. 123-127, 2008.

AYLLON, T.; TESOURO, M. A.; AMUSATEGUI, I.; VILLAESCUSA, A.; RODRIGUEZ-FRANCO, F.; SAINZ, A. Serologic and molecular evaluation of *Leishmania infantum* in cats from Central Spain. **Animal Biodiversity and Emerging Diseases Prediction and Prevention**, New York, v. 1149, n. 1, p.361-364, 2008.

BANETH, G.; SOLANO-GALLEGO, L. Leishmaniasis. In: GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 4. ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2012. cap. 73, p. 735-748.

BANETH, G.; KOUTINAS, A. F.; SOLANO-GALLEGO, L.; BOURDEAU, P.; FERRER, L. Canine leishmaniosis – new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 24, n. 7, p. 324-330, 2008.

BARBIÉRI, C.I. Immunology of canine leishmaniasis. **Parasite Immunology**, Oxford, v. 28, n. 7, p. 329-337, 2006.

BARBOSA, D. S.; ROCHA, A. L.; SANTANA, A. A.; SOUZA, C. S. F.; DIAS, R. A.; COSTA-JÚNIOR, L. M.; ABREU-SILVA, A. L. Soroprevalência e variáveis epidemiológicas associadas à leishmaniose visceral canina em área endêmica no município de São Luís, Maranhão, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 11, n. 3, p. 653-659, 2010.

BARBOZA, D. C. P. M.; GOMES NETO, C. M. B.; LEAL, D. C.; BITTENCOURT, D. V. V.; CARNEIRO, A. J. B.; SOUZA, B. M. P. S.; OLIVEIRA, L. S.; JULIÃO, F. S.; SOUZA, V. M. M.; FRANKE, C. R. Estudo de coorte em áreas de risco para leishmaniose visceral canina, em municípios da Região Metropolitana de Salvador, Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 7, n. 2, p. 152-163, 2006.

BARCELLOS, C.; BASTOS, F. I. Geoprocessamento, ambiente e saúde: uma união possível? **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 3, p. 389-397, 1996.

BARCELLOS, C.; SILVA, S. A.; ANDRADE, A. L. S. S. Análise de dados em forma de pontos. In: Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Fundação Oswaldo Cruz. Série Capacitação e utilização em geoprocessamento em saúde. **Introdução à estatística espacial para a saúde pública**. 3. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2007, cap. 2, p. 29-60.

BARNETT, P. G.; SINGH, S. P.; BERN C.; HIGHTOWER, A. W.; SUNDAR, S. Virgin soil: the spread of visceral leishmaniasis into Uttar Pradesh, India. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 73, n. 4, p. 720–725, 2005.

BAUZER, L. G. S. R.; SOUZA, N. A.; MAINGON, R. D. C.; PEIXOTO, A. A. *Lutzomyia longipalpis* in Brazil: a complex or a single species? A mini-review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 102, n. 1, p. 1-12, 2007.

BERN, C.; COURTENAY, O.; ALVAR, J. Of cattle, sand flies and men: a systematic review of risk factor analyses for South Asian visceral leishmaniasis and implications for elimination. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 4, n. 2, p. 599, 2010.

BERN, C.; HIGHTOWER, A. W.; CHOWDHURY, R.; ALI, M.; AMANN, J.; WAGATSUMA, Y.; HAQUE, R.; KURKJIAN, K.; VAZ, L. E.; BEGUM, M.; AKTER, T.; CETRE-SOSSAH, C. B.; AHLUWALIA, I. B.; DOTSON, E.; SECOR, W. E.; BREIMAN, R. F.; MAGUIRE, J. H. Risk factors for Kala-Azar in Bangladesh. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 11, n. 5, p. 655–662, 2005.

BERN, C.; JOSHI, A. B.; JHA, S. N.; DAS, M. L.; HIGHTOWER, A.; THAKUR, G. D.; BISTA, M. B. Factors associated with visceral leishmaniasis in Nepal: bed-net use is strongly protective. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 63, n. 3, p. 184–188, 2000.

BHATTARAI, N. R.; DER AUWERA, G. V.; RIJAL, S.; PICADO, A.; SPEYBROECK, N.; KHANAL, B.; DONCKER, S. D.; DAS, M. L.; OSTYN, B.; DAVIES, C.; COOSEMANS, M.; BERKVEN, D.; BOELAERT, M.; DUJARDIN, J. C. Domestic animals and epidemiology of visceral leishmaniasis, Nepal. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 16, n. 2, p. 231-237, 2010.

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

BOELAERT, M.; MEHEUS, F.; SANCHEZ, A.; SINGH, S. P.; VANLERBERGHE, V.; PICADO, A.; MEESSEN, B.; SUNDAR, S. The poorest of the poor: a poverty, appraisal of households affected by visceral leishmaniasis in Bihar, India. **Tropical Medicine and International Health**, Oxford, v. 14, n. 6, p. 639-644, 2009.

BORGES, B. K. A.; SILVA, J. A.; HADDAD, J. P. A.; MOREIRA, E. C.; MAGALHÃES, D. F.; RIBEIRO, L. M. L.; FIÚZA, V. O. P. Presença de animais associada ao risco de transmissão da leishmaniose visceral em humanos em Belo Horizonte, Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, n. 5, p. 1035-1043, 2009.

BRAGA, M. D. M.; COELHO, I. C. B.; POMPEU, M. M. L.; EVANS, T. G.; MACAULLIFE, I. T.; TEIXEIRA, M. J.; LIMA, J. W. O. Controle do calazar canino: comparação dos resultados de um programa de eliminação rápida de cães sororreagentes por ensaio imuno-enzimático com outro de eliminação tardia de cães sororreagentes por teste de imunofluorescência indireta de eluato de papel filtro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 31, n. 5, p. 419-424, 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. 1. ed. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2006. p. 120.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Lista dos municípios prioritários para as ações de vigilância e controle, segundo média de casos de 2008 a 2010**. Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar\\_texto.cfm?idtxt=34340](http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=34340)>. Acesso em: 22 out. 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento das Vigilâncias de Doenças Transmissíveis. **Nota Técnica N°/2011. Esclarecimentos sobre o diagnóstico sorológico da leishmaniose visceral canina utilizado na rede pública de saúde.** Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/nt\\_48\\_2011\\_diagnostico\\_lvc\\_19\\_9\\_2011.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/nt_48_2011_diagnostico_lvc_19_9_2011.pdf)>. Acesso em: 21 out. 2011. 2011a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento das Vigilâncias de Doenças Transmissíveis. **Nota Técnica N°/2011. Esclarecimentos sobre a substituição do protocolo de diagnóstico de Leishmaniose Visceral Canina** Disponível em: <[http://sgc.goias.gov.br/upload/arquivo/2012\\_05/nota\\_tecnica\\_n.\\_1\\_2011/-cglab1\\_lcv.pdf](http://sgc.goias.gov.br/upload/arquivo/2012_05/nota_tecnica_n._1_2011/-cglab1_lcv.pdf)>. Acesso em: 21 out. 2011. 2011b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Casos confirmados de leishmaniose visceral, Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. Brasília, DF, [s.n.], 1990-2010.** Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/lv\\_casos\\_05\\_09\\_11.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/lv_casos_05_09_11.pdf)>. Acesso em: 06 set. 2012, 2012a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Coeficiente de incidência de Leishmaniose Visceral, por 100.000 habitantes. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. Brasília, DF, [s.n.], 1990-2010.** Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/lv\\_incidencia\\_05\\_09\\_11.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/lv_incidencia_05_09_11.pdf)>. Acesso em: 16 dez. 2012, 2012b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Letalidade de Leishmaniose Visceral. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. Brasília, DF, [s.n.], 2000-2010.** Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/lv\\_letalidade\\_05\\_09\\_11.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/lv_letalidade_05_09_11.pdf)>. Acesso em: 16 dez. 2012, 2012c.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Óbitos de leishmaniose visceral, Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. Brasília, DF, [s.n.], 1990-2010.** Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/CASOS\\_CONF\\_2010LV.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/CASOS_CONF_2010LV.pdf)>. Acesso em: 16 dez. 2012, 2012d.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Leishmaniose Visceral - Sistema de Informações de Agravos e Notificação – Sinan Net.** Disponível em: <<http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/tabnet/dh?sinannet/leishvi/bases/leishvbrnet.de>>. Acesso em: 21 dez. 2012, 2012e.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Fichas - Leishmaniose Visceral - Sistema de Informações de Agravos e Notificação – Sinan Net**. Disponível em: <<http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/novo/Documentos/SinanNet/fichas/LV.pdf>>. Acesso em: 17 dez. 2012, 2012f.

BUCHETON, B.; KHEIR, M. M.; EL-SAFI, S. H.; HAMMAD, A.; MERGANI, A.; MARY C.; ABEL, L.; DESSEIN, A. The interplay between environmental and host factors during an outbreak of visceral leishmaniasis in eastern Sudan. **Microbes and Infection**, Paris, v. 4, n. 14, p. 1449–1457, 2002.

CÂMARA, G.; CARVALHO, M. S. Análise eventos pontuais. In: DRUCK, S.; CARVALHO, M. S.; CÂMARA, G.; MONTEIRO, A. M. V. **Análise espacial de dados geográficos**. Brasília: EMBRAPA, 2004. cap. 2, p. 1-15.

CAMARGO-NEVES, V. L. F. A leishmaniose visceral americana no estado de São Paulo: situação atual. **Boletim Epidemiológico Paulista**, São Paulo, v. 4, n. 48, p.12-14, 2007.

CAMARGO-NEVES, V. L. F.; KATZ, G.; RODAS, L. A. C.; POLETTO, D. W.; LAGE, L. C.; SPÍNOLA, R. M. F.; CRUZ, O. G. Utilização de ferramentas de análise espacial na vigilância epidemiológica de leishmaniose visceral americana – Araçatuba, São Paulo, Brasil, 1998-1999. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 5, p. 1263-1267, 2001.

CAMARGO-NEVES, V. L. F.; RODAS, L. A. C.; PAULIQUÉVIS JUNIOR, C. Avaliação da efetividade da utilização de coleiras impregnadas com deltametrina 4% para o controle da leishmaniose visceral americana no estado de São Paulo: resultados preliminares. **Boletim Epidemiológico Paulista**, São Paulo, v. 12, n. 1, p. 7-14, 2004.

CARDOSO, L.; LOPES, A. P.; SHERRY, K.; SCHALLIG, H.; SOLANO-GALLEGÓ, L. Low seroprevalence of *Leishmania infantum* infection in cats from northern Portugal based on DAT and ELISA. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 174, n. 1-2, p. 37–42, 2010.

CARNEIRO, D. D. M. T.; BAVIA, M. E.; ROCHA, W. J. S. F.; TAVARES, A. C. Q.; CARDIM, L. L.; ALEMAYEHU, B. Application of spatio-temporal scan statistics for the detection of areas with increased risk for American visceral leishmaniasis in the state of Bahia, Brazil. **Geospatial Health**, Napoli, v. 2, n. 1, p. 113-126, 2007.

CARVALHO, M. R.; LIMA, B. S.; MARINHO-JÚNIOR, J. F.; SILVA, F. J.; VALENÇA, H. F.; ALMEIDA, F. A.; SILVA, A. L.; BRANDÃO-FILHO, S. P. Phlebotomine sandfly species from an American visceral leishmaniasis area in the Northern Rainforest region of Pernambuco State, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 5, p. 1227-1232, 2007.

CARVALHO, M. S.; SOUZA-SANTOS, R. Análise de dados espaciais em saúde pública: métodos, problemas, perspectivas. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 2, p. 361-378, 2005.

CERBINO-NETO, J.; WERNECK, G. L.; COSTA, C. H. N. Factors associated with the incidence of urban visceral leishmaniasis: an ecological study in Teresina, Piauí State, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 7, p. 1543-1551, 2009.

CERQUEIRA, E. J. L.; SHERLOCK, I.; GUSMÃO, A.; BARBOSA JÚNIOR, A. A.; NAKATANI, M. Inoculação experimental de *Equus asinus* com *Leishmania chagasi* Cunha & Chagas, 1937. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 36, n. 6, p. 695-701, 2003.

CESSE, E. A. P.; CARVALHO, E. F.; ANDRADE, P. P.; RAMALHO, W. M.; LUNA, L. Organização do espaço urbano e expansão do Calazar. **Revista Brasileira de Saúde Materno e Infantil**, Recife, v. 1, n. 2, p. 167-76, 2001.

CIARAMELLA, P.; CORONA, M. Canine Leishmaniasis: Clinical and Diagnostic Aspects. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, Cambridge, v. 25, n. 5, p. 358-368, 2003.

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

COSTA, C. H. N.; WERNECK, G. L.; RODRIGUES, L.; SANTOS, M. V.; ARAUJO, I. B.; MOURA, L. S.; MOREIRA, S.; GOMES, R. B. B.; LIMA, S. S. Household structure and urban services: neglected targets in the control of visceral leishmaniasis. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, Liverpool, v. 99, n. 3, p. 229-236, 2005.

COSTA, T. A. C. **Utilização da técnica de ELISA com proteína A e anti-IgG para o diagnóstico sorológico da leishmaniose felina**. 2008. 57 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba e Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araçatuba, 2008.

COSTA, P. L. **Comportamento da fauna de flebotomíneos com ênfase em *Lutzomyia longipalpis*, em área endêmica para leishmaniose visceral, município de Passira, agreste de Pernambuco**. 2011. 91 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Recife, 2011.

COSTA, T. A. C.; ROSSI, C. N.; LAURENTI, M. D.; GOMES, A. A. D.; VIDES, J. P.; SOBRINHO, L. S. V.; MARCONDES, M. Ocorrência de leishmaniose em gatos de área endêmica para leishmaniose visceral. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v. 47, n. 3, p. 213-217, 2010.

COURA-VITAL, W.; MARQUES, M. J.; VELOSO, V. M.; ROATT, B. M.; AGUIAR-SOARES, R. D. O.; REIS, L. E. S.; BRAGA, S. L.; MORAIS, M. H. F.; REIS, A. B.; CARNEIRO, M. Prevalence and factors associated with *Leishmania infantum* infection of dogs from an urban area of Brazil as identified by molecular methods. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 5, n. 8, p.1-10, 2011.

CUNHA, A. M.; CHAGAS, E. Nova espécie de protozoário do gênero *Leishmania* patogênico para o homem. *Leishmania chagasi* n.sp. Nota prévia. **Hospital**, Rio de Janeiro, v. 11, n. 2, p. 3-9, 1937.

DANTAS-TORRES, F. *Leishmania infantum* versus *Leishmania chagasi*: do not forget the laws of nomenclature. **Memorial Instituto Oswaldo Cruz**, v.101, p.117-118, 2006a.

DANTAS-TORRES, F. Situação atual da epidemiologia da leishmaniose visceral em Pernambuco. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v. 40, n. 3, p. 537-541, 2006b.

DANTAS-TORRES, F.; ANDRADE, A. J.; TENÓRIO, K. E. R.; ANDRADE FILHO, J. D.; BALBINO, V. Q.; BRANDÃO-FILHO, S. P. Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in the State of Pernambuco. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 43, n. 6, p. 733-736, 2010.

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

DESJEUX, P. Leishmaniasis. Public health aspects and control. **Clinics in Dermatology**, Philadelphia, v. 14, n. 5, p. 417-423, 1996.

DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Disease**, Oxford, v. 27, n. 5, p. 305-318, 2004.

DHIMAN, R. C.; SEN, A. B. Epidemiology of Kala-azar in rural Bihar (India) using village as a component unit of study. **Indian Journal of Medical Research**, New Delhi, v.93, p.155-160, 1991.

DIAS, R. A; YWAZAKI, F. **Noções de cartografia, geoprocessamento e sistemas de informação geográfica**. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Laboratório de Epidemiologia e Bioestatística, Universidade de São Paulo, 2007. p.1-24.

DIAS-LIMA, A. G.; GUEDES, M. L. S.; SHERLOCK, I. A. Horizontal stratification of the sand fly fauna (Diptera: *Psychodidae*) in a transitional vegetation between caatinga and tropical rain forest, state of Bahia, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 98, n. 6, p. 733-737, 2003.

DONOVAN, C. On the possibility of the occurrence of trypanosomiasis in India. **British Medicine Journal**, London, v. 2, p. 79, 1903.

DUJARDIN, J. C.; CAMPINO, L.; CAÑAVATE, C.; DEDET, J. P.; GRADONI, L.; SOTERIOU, K.; MAZERIS, A.; OZBEL, Y.; BOELAERT, M. Spread of vector-borne diseases and neglect of leishmaniasis, Europe. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 14, n. 7, p. 1013-1018, 2008.

FAYE, B.; BUCHETON, B.; BAÑULS, A. L.; SENGHOR, M. W.; NIANG, A. A.; DIEDHIOU, S.; KONATÉ, O.; DIONE, M. M.; HIDE, M.; MELLUL, S.; KNECHT, R.; DELAUNAY, P.; MARTY, P.; GAYE, O. Seroprevalence of *Leishmania infantum* in a rural area of Senegal: analysis of risk factors involved in transmission to humans. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 105, n. 6, p. 333-340, 2011.

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

FEITOSA, F. L. F.; LEAL, J.; MENDES, L. C. N.; PEIRÓ, J. R.; PERRI, S. H. V.; LIMA, V. M. F.; MARCONDES, M. Estudo soropidemiológico de leishmaniose em equinos na região de Araçatuba-SP, Brasil, área endêmica para leishmaniose visceral. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, 2013, In Press.

FELICIANGELI, M. D. Natural breeding places of phlebotomine sandflies. **Medical and Veterinary Entomology**, Oxford, v. 18, n.1, p. 71-80, 2004.

FELICIANGELI, M. D.; CASTEJON, O. C.; LIMONGI, J. Egg surface ultrastructure of eight New World phlebotomine sand fly species (Diptera: Psychodidae). **Journal of Medical Entomology**, Honolulu, v. 30, n. 4, p. 651- 656, 1993.

FELIPE, I. M. A.; AQUINO, D. M. C.; KUPPINGER, O.; SANTOS, M. D. C.; RANGEL, M. E. S.; BARBOSA, D. S.; BARRAL, A.; WERNECK, G. L.; CALDAS, A. J. M. Leishmania infection in humans, dogs and sandflies in a visceral leishmaniasis endemic area in Maranhão, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 106, n. 2, p. 207-211, 2011.

FERNÁNDEZ, M. S.; SALOMÓN, O. D.; CAVIA, R.; PEREZ, A. A.; ACARDI, S. A.; GUCCIONE, J. D. *Lutzomyia longipalpis* spatial distribution and association with environmental variables in an urban focus of visceral leishmaniasis, Misiones, Argentina. **Acta Tropica**, Basel, v. 114, n. 2, p. 81-87, 2010.

FERNÁNDEZ-BELLON, H.; SOLANO-GALLEGO, L.; BARDAGI, M.; ALBEROLA, J.; RAMIS, A.; FERRER, L. Immune response to *Leishmania infantum* in healthy horses in Spain. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 135, n. 2, p. 181-185, 2006.

FISA, R.; RIERA, C.; GÁLLEGO, M.; MANUBENS, J.; PORTÚS, M. Nested PCR for diagnosis of canine leishmaniosis in peripheral blood, lymphnode and bone marrow aspirates. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 99, n. 2, p. 105-111, 2001.

FRAGA, D. B. M.; SOLCÀ, M. S.; SILVA, V. M. G.; BORJA, L. S.; NASCIMENTO, E. G.; OLIVEIRA, G. G. S.; PONTES-DE-CARVALHO, L. C.; VERAS, P. S. T.; SANTOS, W. L. C. Temporal distribution of positive results of tests for detecting *Leishmania* infection in stray dogs of an endemic area of visceral leishmaniasis in the Brazilian tropics: A 13 years survey and association with human disease. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 190, n. 3-4, p. 591-594, 2012.

FRANÇA-SILVA, J. C.; COSTA, R. T.; SIQUEIRA, A. M.; MACHADO-COELHO, G. L. L.; COSTA, C. A.; MAYRINK, W.; VIEIRA, E. P.; COSTA, J. S.; GENARO, O.; NASCIMENTO, E. Epidemiology of canine visceral leishmaniosis in the endemic area of Montes Claros Municipality, Minas Gerais States, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.111, n. 2-3, p. 161-173, 2003.

FRANCINO, O.; ALTET, L.; SÁNCHEZ-ROBERT, E.; RODRIGUEZ, A.; SOLANO-GALLEGO, L.; ALBEROLA, J.; FERRER, L.; SÁNCHEZ, A.; ROURA, X. Advantages of real-time PCR assay for diagnosis and monitoring of canine leishmaniosis. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 137, n. 3-4, p. 214–221, 2006.

GÁLVEZ, R.; MIRÓ, G.; DESCALZO, M. A.; NIETO, J.; DADO, D.; MARTÍN, O.; CUBERO, E.; MOLINA, R. Emerging trends in the seroprevalence of canine leishmaniosis in the Madrid region (central Spain). **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 169, n. 3-4, p. 327-334, 2010.

GLORIA, M. R. B. **Leishmaniose visceral: situação epidemiológica e distribuição espacial, município de Palmas, Tocantins**. 2006. 98 f. Dissertação (Mestrado em Vigilância em Saúde) - Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública, Rio de Janeiro, 2006.

GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, São Paulo, v. 7, n. 3, p. 338-349, 2004.

GRAMICCIA, M.; GRADONI, L. The current status of zoonotic leishmaniases and approaches to disease control. **International Journal of Parasitology**, New York, v.35, n. 11-12, p.1169-1180, 2005.

GREVOT, A.; JAUSSAUD HUGUES, P.; MARTY, P.; PRATLONG, F.; OZON, C.; HAAS, P.; BRETON, C.; BOURDOISEAU, G. Leishmaniosis due to *Leishmania infantum* in a FIV and FeLV positive cat with a squamous cell carcinoma diagnosed with histological, serological and isoenzymatic methods. **Parasite**, v.12, p.271-275, 2005.

GUARGA, J.L.; LUCIENTES, J.; PERIBÁNEZ, M.A.; MOLINA, R.; GRACIA, M.L.; CASTILLO, J.A. Experimental infection of *Phlebotomus perniciosus* and determination of the natural infection rates of *Leishmania infantum* in dogs. **Acta Tropica**, Basel, v.77, n. 2, p. 203-207, 2000.

HATAM, G. R.; ADNANI, S. J.; ASGARI, Q.; FALLAH, E.; MOTAZEDIAN, M. H.; SADJJADI, S. M.; SARKARI, B. First report of natural infection in cats with *Leishmania infantum* in Iran. **Vector Borne and Zoonotic Diseases**, Larchmont, v. 10, n. 3, p. 313-316, 2009.

HATI, A. K. Current status of leishmaniasis—vector biology. **Proceedings... Indo-UK: Workshop on Leishmaniasis**, 1983. p. 84– 91.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Demográfico 2010: Resultado da amostra**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/link.php?uf=BA>>. Acesso em: 20 out. 2012.

IKEDA-GARCIA, F. A.; FEITOSA, M. M. Métodos de diagnóstico da leishmaniose visceral canina. **Clínica Veterinária**, São Paulo, ano. XI, n. 62, p. 32-38, 2006.

JULIÃO, F. S. **Uso de método de biologia molecular quantitativo (PCR Real-Time) na avaliação de reservatórios para leishmaniose visceral**. 2011. 84 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa) – Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Salvador, 2011.

JULIÃO, F. S.; SOUZA, B. M. P. S.; FREITAS, D. S.; OLIVEIRA, L. S.; LARANGEIRA, D. F.; DIAS-LIMA, A. G.; SOUZA, V. M. M.; BARROUIN-MELO, S. M.; JR MOREIRA, E. D.; PAULE, B. J. A.; FRANKE, C. R. Investigação de áreas de risco como metodologia complementar ao controle da leishmaniose visceral canina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 8, p. 319-324, 2007.

KESARI, S.; BHUNIA, G. S.; KUMAR, V.; JEYARAM, A.; RANJAN, A.; DAS, P. Study of house-level risk factors associated in the transmission of Indian Kala-azar. **Parasites & Vectors**, London, v.3, n.94, p.1-5, 2010.

KHANAL, B.; PICADO, A.; BHATTARAI, N. R.; AUWERA, G. V. D.; DAS, M. L.; OSTYN, B.; DAVIES, C.R.; BOELAERT, M.; DUJARDIN, J.; RIJAL, S. Spatial analysis of *Leishmania donovani* exposure in humans and domestic animals in a recent kala azar focus in Nepal. **Parasitology**, London, v. 137, n. 11, p. 1597–1603, 2010.

KHEIFETS, L. I. Cluster analysis: a perspective. **Statistics in Medicine**, Chichester, v.12, n. 19-20, p.1755-1756, 1993.

KILLICK-KENDRICK, R. Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review. **Medical and Veterinary Entomology**, Oxford, v. 4, n. 1, p 1-24, 1990.

KILLICK-KENDRICK, R.; KILLICK-KENDRICK, M.; FOUCHÉAUX, C.; DELEURE, J.; PUECH, M. P.; CADIÉRGUES, M. C. Protection of dogs from bites of phlebotomine sandflies by deltamethrin collars for control of canine leishmaniasis. **Medical and Veterinary Entomology**, Oxford, v.11, n. 2, p.105-111, 1997.

KOEHLER, K.; STECHELE, M.; HETZEL, U.; DOMINGO, M.; SCHÖNIAN, G.; ZAHNER, H.; BURKHARDT, E. Cutaneous leishmaniasis in a horse in southern

Germany caused by *Leishmania infantum*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 109, n. 1-2, p. 9-17, 2002.

KOUAM, M. K.; DIAKOU, A.; KANZOURA, V.; PAPADOPOULOS, E.; GAJADHAR, A. A.; THEODOROPOULOS, G. A seroepidemiological study of exposure to *Toxoplasma*, *Leishmania*, *Echinococcus* and *Trichinella* in equids in Greece and analysis of risk factors. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 170, n. 1-2, p. 170–175, 2010.

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

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

LAURENTI, M. D.; MARCONDES, M.; ROSSI, C. N.; IKEDA-GARCIA, F. A.; TOMOKANE, T. Y.; RIZZARDI, R. L.; SECUNDINO, N. F. C.; PIMENTA, P. F. P.; CORBETT, C. E. P. Canine leishmaniasis: potential of symptomatic and asymptomatic dogs on the parasite transmissibility to the vector. In: WORLD CONGRESS ON LEISHMANIASIS, 14., 2009. **Anais...** Lucknow: Abstract Book WorldLeish4, 2009. p. 271.

LAVERAN, C. L. A; MESNIL, F. Sur un protozoiaire nouveau (*Piroplasma donovani* Lou. Et mean) Parasite d'une fièvre d'Inde. **Comptes Rendus de l'Association des Anatomistes**, Nancy, n.137, p. 957, 1903.

LEMESTRE, J. L.; AFCHAIN, D.; OROZCO, O.; LOYENS, M.; BRENIERE, F. S.; DESJEUX, P.; CARLIER, Y.; MARTIN, U.; NOGUEIRA-QUEIROZ, J. A.; LE RAY, D.; CAPRON, A. Specific and sensitive immunological diagnosis of Chagas'disease by competitive antibody enzyme immunoassay using a *Trypanosoma cruzi*-specific monoclonal antibody. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 35, n. 1, p. 86-93, 1986.

LEMOES, E. M.; LAURENTI, M. D.; MOREIRA, M. A.; REIS, A. B.; GIUNCHETTI, R. C.; RAYCHAUDHURI, S.; DIETZE R. Canine visceral leishmaniasis: performance of a rapid diagnostic test (Kalazar Detect) in dogs with and without signs of the disease. **Acta Tropica**, Basel, v. 107, n. 2, p. 205-207, 2008.

LIMA, V.M.; FATTORI, K.R.; MEICHELIN, A.F.; SILVEIRA NETO, L.; VASCONCELOS, R.O. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis, **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 173, n. 3-2, p. 330-333, 2010.

LOBSIGER, L.; MULLER, N.; SCHWEIZER, T.; FREY, C.F.; WIEDERKEHR, D.; ZUMKERHR, B.; GOTTSTEIN, B. An autochthonous case of cutaneous bovine leishmaniasis In Switzerland. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 169, n. 3-4, p. 408-414, 2010.

LUTZ, A.; NEIVA, A. Contribuição para o conhecimento das espécies do gênero *Phlebotomus* existentes no Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 4, n. 1, p. 84-95, 1912.

LOMBARDO, G.; PENNISI, M. G.; LUPO, T.; MIGLIAZZO, A.; CAPRI, A.; SOLANO-GALLEGO, L. Detection of *Leishmania infantum* DNA by real-time PCR in canine oral and conjunctival swabs and comparison with other diagnostic techniques. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 184, n. 1, p. 10-17, 2012.

LOPES, E. G. P.; MAGALHÃES, D. F.; SILVA, J. A.; HADDAD, J. P. A.; MOREIRA, E. C. Temporal and spatial distribution of leishmaniasis in humans and dogs from Belo Horizonte-MG, 1993-2007. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 62, n. 5, p. 1062-1071, 2010.

MACHADO, J. G.; HOFFMANN, J. L.; LANGONI, H. Imunopatologia da leishmaniose visceral. **Clínica Veterinária**, São Paulo, ano XII, n. 71, p. 50-58, 2007a.

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

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

MAIA, C.; RAMADA, J.; CRISTÓVÃO, J. M.; GONÇALVES, L.; CAMPINO, L. Diagnosis of canine leishmaniasis: conventional and molecular techniques using different tissues. **Veterinary Journal**, London, v. 179, n. 1, p. 142-144, 2009.

MANNA, L.; VITALE, F.; REALE, S.; CARACAPPA, S.; PAVONE, L. M.; MORTE, R. D.; CRINGOLI, G.; STAIANO, N.; GRAVINO, A. E. Comparison of different tissue sampling for PCR-based diagnosis and follow-up of canine visceral leishmaniosis. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 125, n. 3-4, p. 251-262, 2004.

MARCONDES, M.; BIONDO, A. W.; GOMES, A. A.; SILVA, A. R.; VIEIRA, R. F.; CAMACHO, A. A.; QUINN, J.; CHANDRASHEKAR, R. Validation of a *Leishmania infantum* ELISA rapid test for serological diagnosis of *Leishmania chagasi* in dogs. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 175, n. 1-2, p. 15-19, 2011.

MAROLI, M.; MIZZONI, V.; IRAGUSA, C. S.; D'ORAZI, A.; GRADONI, L. Evidence for an impact on the incidence of canine leishmaniasis by the mass use of deltamethrin-impregnated dog collars in southern Italy. **Medical and Veterinary Entomology**, Oxford, v. 15, n. 4, p. 358-363, 2001.

MAROLI, M.; PENNISI, M. G.; MUCCIO, T. D.; KHOURY, C.; GRADONI, L.; GRAMICCIA, M. Infection of sandflies by a cat naturally infected with *Leishmania infantum*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 145, n. 3-4, p. 357-360, 2007.

MÁRTIN-SÁNCHEZ, J.; ACEDO, C.; MUÑOZ-PÉREZ, M.; PESSON, B.; MARCHAL, O.; MORILLAS-MÁRQUEZ, F. Infection by *Leishmania infantum* in cats: epidemiological study in Spain. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 145, n. 3-4, p. 267-273, 2007.

MARTINS, M. S.; BAVIA, M. E.; SILVA, A. B.; CARDIM, L. L.; SILVA, C. E. P.; CARNEIRO, D. D. M. T. Técnicas de Geoprocessamento Aplicadas no Estudo de Risco Ambiental da Leishmaniose Visceral em área urbana de Feira de Santana, Bahia. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SENSORIAMENTO REMOTO, 13., 2007, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: XIII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, 2007. p. 2825-2832.

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

MICHALICK, M. S.; GENARO, O. Leishmaniose Visceral Americana. In: NEVES, D. P.; MELO, A. L.; LINARDI, P. M.; VITOR, R. W. A. **Parasitologia Humana**. 11. ed. São Paulo: Atheneu, 2007. p. 67-83.

MIGONE, L. E. Un caso de kala-zar a Asunción (Paraguay). **Bulletin of the Exotic Pathology Society**, v.6, p.118-20, 1913.

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

MIRÓ, G.; CARDOSO, L.; PENNISI, M. G.; OLIVA, G.; BANETH, G. Canine leishmaniosis – new concepts and insights on an expanding zoonosis: part two. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 24 n. 8, p. 371-378, 2008.

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

MOREIRA JR., E. D.; SOUZA, V. M. M., SREENIVASAN, M.; LOPES, N. L.; BARRETO, R. B.; CARVALHO, L. P. Peridomestic risk factors for canine leishmaniasis in urban dwellings: new findings from a prospective study in Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 69, n. 4, p. 393–397, 2003.

MOREIRA, M. A. B.; LUVIZOTTO, M. C. R.; GARCIA, J. F.; CORBETT, C. E. P.; LAURENTI, M. D. Comparison of parasitological, immunological and molecular methods for the diagnosis of leishmaniasis in dogs with different clinical signs. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 145, n. 3-4, p. 245-252, 2007.

MORENO, E. C.; MELO, M. N.; GENARO, O.; LAMBERTUCCI, J. R.; SERUFO, J. C.; ANDRADE, A. S. R.; ANTUNES, C. M. F.; CARNEIRO, M. Fatores de risco para infecção por *Leishmania chagasi* em uma área urbana do Estado de Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 38, n. 6, p. 456-463, 2005.

MORENO, J.; ALVAR, J. Canine leishmaniasis: epidemiological risk and the experimental model. **Trends Parasitology**, Oxford, v. 8, n. 9, p. 399-405, 2002.

MORTARINO, M.; FRANCESCHI, A.; MANCIANTI, F.; BAZZOCCHI, C.; GENCHI, C.; BANDI, C. Quantitative PCR in the diagnosis of *Leishmania*. **Parassitologia**, Roma, v. 46, n. 1-2, p. 163-167, 2004.

MUKHTAR, M. M.; SHARIEF, A. H.; EL SAFFI, S. H.; HARITH, A. E.; HIGAZZI, T. B.; ADAM, A. M.; ABDALLA, H. S. Detection of antibodies to *Leishmania donovani* in animals in a kala-azar endemic region in eastern Sudan: a preliminary report. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 94, n. 1, p. 33–36, 2000.

MÜLLER, N.; WELLE, M.; LOBSIGER, L.; STOFFEL, M. H.; BOGHENBOR, K. K.; HILBE, M.; GOTTSTEIN, M.; FREY, C. F.; GEYER, C.; BOMHARD, W. Occurrence of *Leishmania sp.* in cutaneous lesions of horses in Central Europe. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 166, n. 3-4, p. 346–351, 2009.

MUTINGA, M. J.; KIHARA, S. M.; LOHDING, A.; MUTERO, C. M.; NGATIA, T. A.; KARANU, F. Leishmaniasis in Kenya: description of leishmaniasis of a domestic goat from Transmara, Narock District, Kenya. **Tropical Medicine and Parasitology**, Stuttgart, v. 40, n. 2, p. 91-96, 1989.

NASEREDDIN, A.; SALANT, H.; ABDEEN, Z. Feline leishmaniasis in Jerusalem: Serological investigation. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 158, n. 4, p. 364-369, 2008.

NETO, L. S.; SOBRINHO, L. S. V.; MARTINS, C. O.; MACHADO, R. Z.; MARCONDES, M.; LIMA, V. M. F. Use of crude, FML and rK39 antigens in ELISA to detect anti-*Leishmania* spp. antibodies in *Felis catus*. **Parasitology**, London, v. 177, p.374-377, 2011.

NUNES, C. M.; DIAS, A. K. K.; GOTTARDI, F. P.; PAULA, H. B.; AZEVEDO, M. A. A.; LIMA, V. M. F.; GARCIA, J. F. Avaliação da reação em cadeia pela polimerase para diagnóstico da leishmaniose visceral em sangue de cães. **Revista Brasileira de Parasitologia e Veterinária**, São Paulo, v. 16, n. 1, p. 5-9, 2007.

OLIVEIRA, C. D. L.; ASSUNÇÃO, R. M.; REIS, I. A.; PROIETTI, F. A. Spatial distribution of human and canine visceral leishmaniasis in Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brasil, 1994-1997. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 5, p. 1231-1239, 2001.

OLIVEIRA, S. S.; ARAÚJO, T. M. Avaliação das ações de controle da leishmaniose visceral (Calazar) em uma área endêmica do Estado da Bahia, Brasil (1995-2000). **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 6, p.1681-1690, 2003.

OTRANTO, D.; TESTINI, G.; BUONAVOGLIA, C.; PARISI, A.; BRANDONISIO, O.; CIRCELLA, E.; DANTAS-TORRES, F.; CAMARDA, A. Experimental and field investigations on the role of birds as hosts of *Leishmania infantum*, with emphasis on the domestic chicken. **Acta Tropica**, Basel, v. 113, n. 1, p. 80–83, 2010.

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

PASSOS-DIAS, F. O.; LOROSA, E. S.; REBÊLO, J. M. M. Fonte alimentar sangüínea e a peridomiciliação de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Psychodidae, Phlebotominae). **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 5, p. 1373-1380, 2003.

PENNISI, M.G.; VENZA, M.; REALE, S.; VITALE, F.; GIUDICE, S.L. Case report of leishmaniasis in four cats. **Veterinary Research Communications**, v.28, p.363-366, 2004.

PENNA, H. A. Leishmaniose visceral no Brasil. **Brasil Médico**, Rio de Janeiro, v. 18, p. 940-50, 1934.

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

PITTA-PEREIRA, D.; CARDOSO, M. A.; ALVES, C. R.; BRAZIL, R. P.; BRITTO, C. Detection of natural infection in *Lutzomyia cruzi* and *Lutzomyia forattinii* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) by *Leishmania infantum chagasi* in an endemic area of visceral leishmaniasis in Brazil using a PCR multiplex assay. **Acta Tropica**, Basel, v. 107, n. 1, p. 66-69, 2008.

POLI, A.; ABRAMO, F.; BARSOTTI, P.; LEVA, S.; GRAMICCIA, M.; LUDOVISI, A.; MANCIANTI, F. Feline leishmaniosis due to *Leishmania infantum* in Italy. **Veterinary Parasitology**, v.106, p.181-191, 2002.

PORROZZI, R.; Da COSTA, M. V. S.; TEVA, A.; FALQUETO, A.; FERREIRA, A. L.; Dos SANTOS, C. D.; FERNANDES, A. P.; GAZZINELLI, R. T.; CAMPOSNETO, A.; GRIMALDI-JUNIOR, G. Comparative evaluation of enzyme-linked immunosorbent assays based on crude and recombinant leishmanial antigens for serodiagnosis of symptomatic and asymptomatic *Leishmania infantum* visceral infections in dogs. **Clinical and Vaccine Immunology**, Washington, v. 14, n. 5, p. 544-548, 2007.

PORTÚS, M.; GÁLLEGO, M.; RIERA, C.; AISA, M. J.; FISA, R.; CASTILLEJO, S. Wild and domestic mammals in the life cycle of *Leishmania infantum* in Southwest Europe. A literature review and studies performed in Catalonia (Spain). **Revista Ibérica de Parasitología**, Granada, v. 62, n. 3-4, p. 72-76, 2002.

PRADO, P. F.; ROCHA, M. F.; SOUSA, J. F.; CALDEIRA, D. I.; PAZ, G. F.; DIAS, E. S. Epidemiological aspects of human and canine visceral leishmaniasis in Montes Claros, state of Minas Gerais, Brazil, between 2007 and 2009. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 44, n. 5, p. 561-566, 2011.

PRINA E.; ROUX E.; MATTEI, D.; MILON, G. *Leishmania* DNA is rapidly degraded following parasite death: an analysis by microscopy and real-time PCR. **Microbes and Infection**, Paris, v. 9, n. 11, p. 1307–1315, 2007.

QUINNELL, R. J.; DYE, C.; SHAW, J. J. Host preferences of the phlebotomine sandfly *Lutzomyia longipalpis* in Amazonian Brazil. **Medical and Veterinary Entomology**, Oxford, v. 6, n. 3, p.195-200, 1992.

RAMOS, R. A.; RAMOS, C. A.; JUSI, M. M.; ARAÚJO, F. R.; MACHADO, R. Z.; FAUSTINO, M. A.; ALVES, L. C.; Polymerase chain reaction and real-time PCR for diagnosing of *Leishmania infantum chagasi* in dogs. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinaria**, São Paulo, v. 21, n. 3, p. 192-195, 2012.

RANGEL, E. F.; VILELA, M. L. *Lutzomyia longipalpis* (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 12, p. 2948-2952, 2008.

RANJAN, A.; SUR, D.; SINGH, V. P.; SIDDIQUE, N. A.; MANNA, B.; LAL, C. S.; SINHA, P. K.; KISHORE, K.; BHATTACHARYA, S. K. Risk factors for Indian kala-azar. **American Journal Tropical Medicine Hygiene**, Baltimore, v. 73, n. 1, p. 74-78, 2005.

REITHINGER, R.; QUINNELL, R. J.; ALEXANDER, B.; DAVIES, C. R. Rapid Detection of *Leishmania infantum* Infection in Dogs: Comparative Study Using an Immunochromatographic Dipstick Test, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, and PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 40, n. 7, p. 2352-2356, 2002.

REUSS, S. M.; DUNBAR, M. D.; MAYS, M. B. C.; OWEN, J. L.; MALLICOTE, M. F.; ARCHER, L. L.; WELLEHAN JR., J. F. X. Autochthonous *Leishmania siamensis* in Horse, Florida, USA. **Emerging Infectious Disease**, Atlanta, v. 18, n. 9, p. 1545-1547, 2012.

RODRIGUES, A. C.; DOS SANTOS, A. B.; FEITOSA, L. F.; SANTANA, C. S.; NASCIMENTO, E. G.; MOREIRA JR., E. D. Criação peridomiciliar de galináceos aumenta o risco de leishmaniose visceral humana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 32, p. 12-13, 1999.

ROLÃO, N.; MARTINS, M. J.; JOÃO, A.; CAMPINO, L. Equine infection with *Leishmania* in Portugal. **Parasite**, Paris, v. 12, n. 2, p. 183-186, 2005.

RONDON, F. C. M.; BEVILAQUA, C. M. L.; FRANKE, C. R.; BARROS, R. S.; OLIVEIRA, F. R.; ALCÂNTARA, A. C.; DINIZ, A. T. Cross-sectional serological study of canine *Leishmania* infection in Fortaleza, Ceará state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 155, n. 1-2, p. 24-31, 2008.

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

ROSS, R. Further notes on Leishman's bodies. **British Medical Journal**, London, v. 2, p. 1401, 1903.

RYAN, J. R.; MBUI, J.; RASHID, J. R.; WASUNNA, M. K.; KIRIGI, G.; MAGIRI, C.; KINOTI, D.; NGUMBI, P. M.; MARTIN, S. K.; ODERA, S. O.; HOCHBERG, L. P.; BAUTISTA, C. T.; CHAN, A. S. Spatial clustering and epidemiological aspects of visceral leishmaniasis in two endemic villages, Baringo District, Kenya. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 74, n. 2, p. 308-317, 2006.

SAHA, S.; RAMACHADRAN, R.; HUTIN, Y. J.; GUPTE, M. D. Visceral leishmaniasis is preventable in a highly endemic village in West Bengal, India. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 103, n. 7, p. 737-742, 2009.

SANTOS, S. M.; BARCELLOS, C. **Abordagens espaciais na saúde pública**. In: BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Série Capacitação e utilização em geoprocessamento em saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2006, v.1, 126p.

SANTOS, S.M.; SOUSA, W.V. **Introdução à Estatística Espacial para a Saúde Pública**. In: BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Série Capacitação e utilização em geoprocessamento em saúde. Brasília : Ministério da Saúde, 2007, v.2, 120p.

SARKARI, B.; HATAM, G. R.; ADNANI, S. J.; ASGARI, Q. Seroprevalence of feline leishmaniasis in areas of Iran where *Leishmania infantum* is endemic. **Annals of Tropical Medicine e Parasitology**, Liverpool, v. 103, n. 3, p. 275. 2009.

SCHENKEL, K.; RIJAL, S.; KOIRALA, S.; VANLERBERGHE, V.; VAN DER STUYFT, P.; GRAMICCIA, M. BOELAERT, M. Visceral leishmaniasis in southeastern Nepal: a cross-sectional survey on *Leishmania donovani* infection and its risk factors. **Tropical Medicine & International Health**, Oxford, v. 11, n. 12, p. 1792-1799, 2006.

SHANG, Q. L.; PENG, W.; JIN, H.; XU, D.; ZHONG, N.; WANG, W.; WU, Y.; LIU, Q. The prevalence of canine *Leishmania infantum* infection in Sichuan Province, southwester China detected by real time PCR. **Parasites & Vectors**, London, v. 4, n. 1, p. 173-5, 2011.

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

SHERLOCK, I. A. Ecological interactions of visceral leishmaniasis in the State of Bahia, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 91, n. 6, p. 671-683, 1996.

SHERRY, K., MIRÓ, G., TROTTA, M., MIRANDA, C., MONTOYA, A., ESPINOSA, C., RIBAS, F., FURLANELLO, T., SOLANO-GALLEGÓ, S. A serological and molecular study of *Leishmania infantum* infection in cats from the Island of Ibiza (Spain). **Vector Borne and Zoonotic Diseases**, Larchmont, v. 11, n. 3, p. 239–245, 2011.

SILVA, A. R. S.; ROSSI, C. N.; GOMES, A. A. D.; VIEIRA, R. F. C.; IKEDA-GARCIA, F. A.; CIARLINI, P. C.; CIARLINI, L. D. R. P.; FEITOSA, M. M. Osteoartrite por *Leishmania* sp. em cão Pitt Bull – Relato de caso. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 35, n. 2, p. 730-732, 2007.

SILVA, D. F.; VASCONCELOS, S. D. A ten year (1990-1999) survey on leishmaniasis incidence in Pernambuco state, Northeastern Brazil. **Revista Patologia Tropical**, Goiania, v. 32, n. 1, p. 53-61, 2003.

SILVA, F. T. S.; SANTOS, J. T.; NETTO, E. M.; BAVIA, M. E.; NAKATANI, M.; SOUZA, F. D. P.; CARDIMA, L. L.; CARNEIRO, D. D. M. T. Aspectos clínicos da leishmaniose visceral canina no distrito de Monte Gordo, Camaçari (BA). **Revista Baiana de Saúde Publica**, Salvador, v. 34, n. 4, p. 783-795, 2010.

SILVA, J. P.; WERNECK, G. L.; MACEDO, E. C.; CARVALHO, H.; CRUZ, M. S. P. Fatores associados a infecção por *Leishmania chagasi* em cães domiciliados de Teresina, Estado do Piauí, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 45, n. 4, p. 480-484, 2012.

SILVEIRA, F. T.; CARNEIRO, L. A.; RAMOS, P. K.; CHAGAS, E. J.; LIMA, L. V.; CAMPOS, M. B.; LAURENTTI, M. D.; GOMES, C. M.; CORBETT, C. E. A cross-sectional study of canine *Leishmania (L.) infantum chagasi* infection in Amazonian Brazil ratifies a higher prevalence of specific IgG-antibody response than delayed-type hypersensitivity in symptomatic and asymptomatic dogs. **Parasitology Research**, Berlin, v. 111, n. 4, p. 1513-1522, 2012.

SINGH, S. P.; HASKEN, E.; PICADO, A.; GIDWANI, K.; MALAVIYA, P.; SINGH, R. P.; BOELAERT, M.; SUNDAR, S. Risk factors for visceral leishmaniasis in India: further evidence on the role of domestics animals. **Tropical Medicine & International Health**, Oxford, v. 15, n. 2, p. 29-35, 2010.

SINGH N.; MISHRA, J.; SINGH, R.; SINGH, S. Animal reservoirs of visceral leishmaniasis in India. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 99, n. 1, p. 64-67, 2013.

SOBRINHO, L. S. V. **Leishmaniose felina e sua associação com imunodeficiência viral e toxoplasmose em gatos provenientes de área endêmica para leishmaniose visceral**. 2010, 82 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araçatuba, 2010.

SOBRINHO, L. S. V.; ROSSI, C. N.; VIDES, J. P.; BRAGA, E. T.; GOMES, A. A. D.; LIMA, V. M. F.; PERRI, S. H. V.; GENEROSO, D.; LANGONI, H.; LEUTENEGGER, C.; BIONDO, A. W.; LAURENTI, M. D.; MARCONDES, M. Coinfection of *Leishmania chagasi* with *Toxoplasma gondii*, Feline Immunodeficiency Virus (FIV) and Feline Leukemia Virus (FeLV) in cats from an endemic area of zoonotic visceral leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 187, n. 1-2, p. 302-306, 2012.

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

SOLANO-GALLEGO, L.; LLULL, J.; RAMOS, G.; RIERA, C.; ARBOIX, M.; ALBEROLA, J.; FERRER, L. The Ibizaian Hound presents a predominantly cellular immune response against natural leishmania infection. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 90, n. 1-2, p. 37-45, 2000.

SOLANO-GALLEGO, L.; MORELL, P.; ARBOIX, M.; ALBEROLA, J.; FERRER, L. Prevalence of *Leishmania infantum* infection in dogs living in an area of canine leishmaniasis endemicity using PCR on several tissues and serology. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 39, n. 2, p. 560-563, 2001.

SOLANO-GALLEGO, L.; RODRÍGUEZ-CORTÉS, A.; INIESTA, L.; QUINTANA, J.; PASTOR, J.; ESPADA, Y.; PORTÚS, M.; ALBEROLA, J. Cross-sectional serosurvey of feline leishmaniasis in ecoregions around the Northwestern Mediterranean. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 76, n. 4, p. 676-680, 2007.

TAFURI, W. L.; SANTOS, R. L.; ARANTES, R. M. E.; GONÇALVES, R.; MELO, M. N.; MICHALICK, M. S. M.; TAFURI, W. L. An alternative immunohistochemical method for detecting *Leishmania* amastigotes in paraffin-embedded canine tissues. **Journal of Immunological Methods**, Amsterdam, v. 292, n. 1-2, p. 17-23, 2004.

VIDES, J. P.; SCHAWARDT, T. F.; SOBRINHO, L. S. V.; MARINHO, M.; LAURENTI, M. D.; BIONDO, A. W.; LEUTENEGGER, C.; MARCONDES, M. *Leishmania chagasi* infection in cats with dermatologic lesions from an endemic area of visceral leishmaniosis in Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 178, n. 1-2, 22-28, 2011.

VITA, S.; SANTORI, D.; AGUZZI, I.; PETROTTA, E.; LUCIANI, A. Feline leishmaniasis and ehrlichiosis: serological investigation in Abruzzo region. **Veterinary Research Communications**, Dordrecht, v. 29, Supl. 2, p. 319-321, 2005.

WERNECK, G. L.; COSTA, C. H. N.; WALKER, A. M.; DAVID, J. R.; WAND, M.; MAGUIRE, J. H. Multilevel modelling of the incidence of visceral leishmaniasis in Teresina, Brazil. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, v. 135, n. 2, p. 195-201, 2007.

WERNECK, G.L.; RODRIGUES, L.; SANTOS, M.V. The burden of leishmania chagasi infection during an urban outbreak of visceral leishmaniasis in Brazil. **Acta Tropica**, Basel, v. 83, n. 1, p. 13-18, 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. **Magnitude of the problem**. Disponível em: <[http://www.who.int/leishmaniasis/burden/magnitude/burden\\_magnitude/en/index.html](http://www.who.int/leishmaniasis/burden/magnitude/burden_magnitude/en/index.html)>. Acesso em: 01 dez. 2012.

ZANETTE, M. F. **Comparação entre os métodos de ELISA, imunofluorescência indireta e imunocromatografia para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina**. 2006. 75 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araçatuba, 2006.

ZANETTE, M. F.; LIMA, V. M. F. ; LAURENTI, M. D. ; VIDES, J. P. ; SILVA, D. L. ; ROSSI, C. N. ; IKEDA-GARCIA, F. A. ; ROSA, F. A. ; SOBRINHO, L. S. V. ; COSTA, D. C. ; PERRI, S. H. V. ; CAMACHO, A. A. ; MARCONDES, M. Occurrence of cross-reaction between canine visceral leishmaniasis and Chagas disease by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), indirect immunofluorescent antibody test (IFAT) and immunochromatographic dipstick test. In: **American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM) Forum**, 2008, San Antonio, Texas. 26th Annual ACVIM Forum Proceedings, 2008. v. 1. p. 854., 2008a.

ZANETTE, M. F. ; LIMA, V. M. F. ; LAURENTI, M. D. ; VIDES, J. P. ; SILVA, D. L. ; ROSSI, C. N. ; IKEDA-GARCIA, F. A. ; ROSA, F. A. ; SOBRINHO, L. S. V. ; COSTA, D. C. ; PERRI, S. H. V. ; HAGIWARA, M. K. ; MARCONDES, M. . Occurrence of cross-reaction between canine visceral leishmaniasis and ehrlichiosis by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), indirect immunofluorescent antibody test (IFAT) and immunochromatographic dipstick test. In: **American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM) Forum**, 2008, San Antonio, Texas. 26th Annual ACVIM Forum Proceedings, 2008. v. 1. p. 854, 2008b.

ZIVICNJAK, T.; MARTINKOVIĆ, F.; MARINCULIĆ, A.; MRLJAK, V.; KUCER, N.; MATIJATKO, V.; MIHALJEVIĆ, Z.; BARIĆ-RAFAJ, R. A seroepidemiologic survey of canine visceral leishmaniosis among apparently health dogs in Croatia. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 131, n. 1-2, p. 35-43, 2005.

## **APÊNDICES**

**CASO SUSPEITO:**

Todo indivíduo proveniente de área com ocorrência de transmissão, com febre e esplenomegalia.

Todo indivíduo proveniente de área sem ocorrência de transmissão, com febre e esplenomegalia, desde que descartado os diagnósticos diferenciais mais frequentes na região.

|                              |                       |                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                              |                                                    |                                             |          |                             |                    |                                    |                               |            |                   |  |
|------------------------------|-----------------------|----------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|----------------------------------------------------|---------------------------------------------|----------|-----------------------------|--------------------|------------------------------------|-------------------------------|------------|-------------------|--|
| Dados Gerais                 | 1                     | Tipo de Notificação                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 2 - Individual               |                                                    |                                             |          |                             |                    |                                    |                               |            |                   |  |
|                              | 2                     | Agravado/doença                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Código (CID10)               | 3                                                  | Data da Notificação                         |          |                             |                    |                                    |                               |            |                   |  |
|                              | LEISHMANIOSE VISCERAL |                                                          | B 5 5.0                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                              |                                                    |                                             |          |                             |                    |                                    |                               |            |                   |  |
| Dados Gerais                 | 4                     | UF                                                       | 5                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Município de Notificação     |                                                    | Código (IBGE)                               |          |                             |                    |                                    |                               |            |                   |  |
|                              | 6                     |                                                          | Unidade de Saúde (ou outra fonte notificadora)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                              | Código                                             | 7                                           |          | Data dos Primeiros Sintomas |                    |                                    |                               |            |                   |  |
|                              |                       |                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                              |                                                    |                                             |          |                             |                    |                                    |                               |            |                   |  |
| Notificação Individual       | 8                     | Nome do Paciente                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                              |                                                    | 9                                           |          | Data de Nascimento          |                    |                                    |                               |            |                   |  |
|                              | 10                    | (ou) Idade                                               | 1 - Hora<br>2 - Dia<br>3 - Mês<br>4 - Ano                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 11                           | Sexo M - Masculino<br>F - Feminino<br>I - Ignorado | 12                                          | Gestante | 13                          | Raça/Cor           |                                    |                               |            |                   |  |
|                              |                       |                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                              |                                                    |                                             |          |                             |                    |                                    |                               |            |                   |  |
|                              | 14                    |                                                          | Escolaridade                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                              |                                                    |                                             |          |                             |                    |                                    |                               |            |                   |  |
|                              |                       |                                                          | 0-Analfabeto 1-1ª a 4ª série incompleta do EF (antigo primário ou 1º grau) 2-4ª série completa do EF (antigo primário ou 1º grau) 3-5ª à 8ª série incompleta do EF (antigo ginásio ou 1º grau) 4-Ensino fundamental completo (antigo ginásio ou 1º grau) 5-Ensino médio incompleto (antigo colegial ou 2º grau) 6-Ensino médio completo (antigo colegial ou 2º grau) 7-Educação superior incompleta 8-Educação superior completa 9-Ignorado 10- Não se aplica |                              |                                                    |                                             |          |                             |                    |                                    |                               |            |                   |  |
| Dados de Residência          | 15                    | Número do Cartão SUS                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 16                           |                                                    | Nome da mãe                                 |          |                             |                    |                                    |                               |            |                   |  |
|                              |                       |                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                              |                                                    |                                             |          |                             |                    |                                    |                               |            |                   |  |
|                              | 17                    | UF                                                       | 18                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Município de Residência      |                                                    | Código (IBGE)                               | 19       |                             | Distrito           |                                    |                               |            |                   |  |
|                              |                       |                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                              |                                                    |                                             |          |                             |                    |                                    |                               |            |                   |  |
|                              | 20                    | Bairro                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 21                           |                                                    | Logradouro (rua, avenida,...)               |          | Código                      |                    |                                    |                               |            |                   |  |
| Dados de Residência          |                       |                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                              |                                                    |                                             |          |                             |                    |                                    |                               |            |                   |  |
|                              | 22                    | Número                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 23                           |                                                    | Complemento (apto., casa, ...)              |          | 24                          |                    | Geo campo 1                        |                               |            |                   |  |
|                              |                       |                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                              |                                                    |                                             |          |                             |                    |                                    |                               |            |                   |  |
|                              | 25                    | Geo campo 2                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 26                           |                                                    | Ponto de Referência                         |          | 27                          |                    | CEP                                |                               |            |                   |  |
|                              |                       |                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                              |                                                    |                                             |          |                             |                    |                                    |                               |            |                   |  |
| Dados de Residência          | 28                    | (DDD) Telefone                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 29                           |                                                    | Zona                                        |          | 30                          |                    | País (se residente fora do Brasil) |                               |            |                   |  |
|                              |                       |                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                              |                                                    |                                             |          |                             |                    |                                    |                               |            |                   |  |
|                              |                       |                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                              |                                                    |                                             |          |                             |                    |                                    |                               |            |                   |  |
| Dados Complementares do Caso |                       |                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                              |                                                    |                                             |          |                             |                    |                                    |                               |            |                   |  |
| Antec. Epidem.               | 31                    | Data da Investigação                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 32                           |                                                    | Ocupação                                    |          |                             |                    |                                    |                               |            |                   |  |
|                              |                       |                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                              |                                                    |                                             |          |                             |                    |                                    |                               |            |                   |  |
| Dados Clínicos               | 33                    | Manifestações Clínicas (sinais e sintomas)               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado |                                                    |                                             |          |                             |                    |                                    |                               |            |                   |  |
|                              |                       |                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                              |                                                    |                                             |          |                             |                    |                                    |                               |            |                   |  |
|                              |                       |                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                              |                                                    |                                             |          |                             |                    |                                    |                               |            |                   |  |
| Dados Clínicos               | 34                    | Co - infecção HIV                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                              |                                                    |                                             |          |                             |                    |                                    |                               |            |                   |  |
|                              |                       |                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                              |                                                    |                                             |          |                             |                    |                                    |                               |            |                   |  |
| Dados Labor. /Class. do caso | 35                    | Diagnóstico Parasitológico                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 36                           |                                                    | Diagnóstico Imunológico                     |          | 37                          |                    | Tipo de Entrada                    |                               |            |                   |  |
|                              |                       |                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                              |                                                    |                                             |          |                             |                    |                                    |                               |            |                   |  |
|                              |                       |                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                              |                                                    |                                             |          |                             |                    |                                    |                               |            |                   |  |
| Tratamento                   | 38                    | Data do Início do Tratamento                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 39                           |                                                    | Droga Inicial Administrada                  |          | 1 - Antimonial Pentavalente |                    | 3 - Pentamidina                    |                               | 5 - Outras |                   |  |
|                              |                       |                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                              |                                                    |                                             |          |                             | 2 - Anfotericina b |                                    | 4 - Anfotericina b lipossomal |            | 6 - Não Utilizada |  |
|                              | 40                    | Peso                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 41                           |                                                    | Dose Prescrita em mg/kg/dia Sb <sup>+</sup> |          | 42                          |                    | Nº Total de Ampolas Prescritas     |                               |            |                   |  |
|                              |                       |                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                              |                                                    |                                             |          |                             |                    |                                    |                               |            |                   |  |
| Tratamento                   | 43                    | Outra Droga Utilizada, na Falência do Tratamento Inicial |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                              |                                                    |                                             |          |                             |                    |                                    |                               |            |                   |  |
|                              |                       |                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                              |                                                    |                                             |          |                             |                    |                                    |                               |            |                   |  |

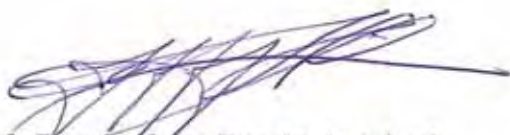


## CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

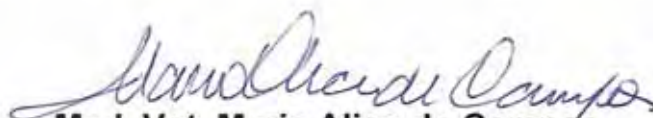
### CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 017698/11 do trabalho de pesquisa intitulado **"Caracterização da carga parasitária e análise espacial da exposição de animais domésticos a *Leishmania chagasi* em área endêmica para leishmaniose"**, sob a responsabilidade da Profª Drª Mary Marcondes 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 02 de Setembro de 2011.

Jaboticabal, 05 de Setembro de 2011.



**Prof. Dr. Jeffrey Frederico Lui**  
Presidente - CEUA



**Med. Vet. Maria Alice de Campos**  
Secretária - CEUA

## **ANEXOS**

**ANEXO A.****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO**

Eu, \_\_\_\_\_, portador do CPF: \_\_\_\_\_, RG: \_\_\_\_\_, residente no endereço: \_\_\_\_\_, nº\_\_\_\_, bairro: \_\_\_\_\_, município: \_\_\_\_\_ UF: \_\_\_\_\_, concordo em responder ao questionário e permito que seja feita a colheita de amostras de sangue de todos os animais residentes em minha propriedade, para que seja realizada a investigação de leishmaniose visceral, por meio da técnica de PCR em tempo real e sorologia.

Estou ciente, ainda, de que os dados obtidos no questionário e os resultados da pesquisa de leishmaniose visceral serão utilizados no projeto de pesquisa intitulado “**Fatores de risco e análise espacial para a leishmaniose visceral no município de Juazeiro – Bahia - Brasil**” e posteriormente publicados em revista científica; e que também serão notificados ao Centro de Controle de Zoonoses do município os animais sororreagentes ou com DNA do parasita, conforme as normas do Ministério da Saúde do Brasil.

Juazeiro, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_

---

Assinatura do proprietário

**ANEXO B.** Características dos domicílios, ambiente e população animal, localizados e residentes ao redor de 250 metros do caso humano portador de leishmaniose visceral, no município Juazeiro - BA. (Jaboticabal – SP, 2013).

data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**IDENTIFICAÇÃO CASO POSITIVO DE LVH**

CASO Nº \_\_\_\_ / ANO \_\_\_\_ Coordenada GPS: \_\_\_\_\_

Quadra: \_\_\_\_\_ / Bairro: \_\_\_\_\_ Distrito: \_\_\_\_\_

**IDENTIFICAÇÃO CASA AVALIADA**

CASA Nº \_\_\_\_ Coordenada GPS: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Distância do caso humano: \_\_\_\_\_ metros

Pessoas na casa: \_\_\_\_ idade /sexo: \_\_\_\_\_

Profissão: \_\_\_\_\_

Habitantes usam alguma proteção contra LV? ( ) não ( ) sim Qual? \_\_\_\_\_

Conhecem a doença (LVH)? ( ) sim ( ) não

Deslocamento para outras regiões: ( ) sim ( ) não local: \_\_\_\_\_

- Construção da residência: ( ) taipa ( ) madeira ( ) alvenaria / Teto: ( ) sem forro ( ) gesso ( ) laje

- Número de cômodos \_\_\_\_\_ piso: ( ) cerâmica ( ) cimento ( ) terra / banheiro: ( ) dentro ( ) fora

- Tela nas janelas? ( ) sim ( ) não / Quintal? ( ) sim ( ) não - piso: \_\_\_\_\_

- Galinheiro? ( ) não ( ) sim / Curral? ( ) não ( ) sim / Chiqueiro? ( ) sim ( ) não

- Matagal domiciliar e/ou peridomiciliar ( ) não ( ) sim

- Coleta de lixo na rua? ( ) não ( ) sim - frequência: \_\_\_\_x / semana

- Esgoto canalizado ( ) não ( ) sim

- Água canalizada: ( ) não ( ) sim

- Lixo e entulhos na residência ou peridomiciliar? ( ) não ( ) sim

**IDENTIFICAÇÃO DOS ANIMAIS DOMÉSTICOS / CASA**

Animais na propriedade? ( ) não ( ) sim. Quantidade: \_\_\_\_\_

Convivem com os proprietários? ( ) não ( ) sim

Convivem entre espécies? ( ) não ( ) sim

Distância entre animais/casa: ( ) até 20 m ( ) 20-50m ( ) 50-100m ( ) > 100m

Espécies: ( ) canina/Quant: \_\_\_\_ ( ) felina/Quant: \_\_\_\_ ( ) caprina/ Quant: \_\_\_\_ ( ) bovina/Quant: \_\_\_\_

( ) eqüina/Quant: \_\_\_\_ ( ) muare/Quant: \_\_\_\_ ( ) suínos/Quant: \_\_\_\_ ( ) galinhas/ Quant: \_\_\_\_

( ) outros \_\_\_\_\_/Quant: \_\_\_\_

OBS: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**IDENTIFICAÇÃO DOS ANIMAIS DOMÉSTICOS**

CASA Nº \_\_\_\_\_ Bairro: \_\_\_\_\_ Coordenada GPS: \_\_\_\_\_

| ANIMAL<br>Nº | ESPÉCIE | RAÇA | SEXO | IDADE |
|--------------|---------|------|------|-------|
|              |         |      |      |       |
|              |         |      |      |       |
|              |         |      |      |       |

| ANIMAL<br>Nº | EXAME PARA LEISHMANIOSE |            | CONTROLE PARA LEISHMANIOSE |                                                  |
|--------------|-------------------------|------------|----------------------------|--------------------------------------------------|
|              | NÃO                     | SIM / Qual | NÃO                        | SIM – QUAL? (CITRONELA, COLEIRA, TÓPICO, VACINA) |
|              |                         |            |                            |                                                  |
|              |                         |            |                            |                                                  |
|              |                         |            |                            |                                                  |

| ANIMAL<br>Nº | ACESSO A RUA |                 | ALTERAÇÕES CLÍNICAS |     |        |
|--------------|--------------|-----------------|---------------------|-----|--------|
|              | Domiciliado  | Semidomiciliado | NÃO                 | NÃO | SIM ** |
|              |              |                 |                     |     |        |
|              |              |                 |                     |     |        |
|              |              |                 |                     |     |        |

\*\* Alterações clínicas: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_