

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E SAÚDE ANIMAL

RAIZZA BARROS SOUSA SILVA

Leishmaniose visceral canina e felina no semiárido paraibano

Patos/PB  
2019

Raizza Barros Sousa Silva

Leishmaniose visceral canina e felina no semiárido paraibano

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal, da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutora em Ciência e Saúde Animal.

Dra. Marcia Almeida de Melo

Orientadora

Dr. Walter Massa Ramalho

Coorientador

Patos/PB

2019

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSTR**

S586l

Silva, Raizza Barros Sousa

Leishmaniose visceral canina e felina no semiárido paraibano / Raizza Barros Sousa Silva. – Patos, 2019.

73f.

Tese (Doutorado em Ciência e Saúde Animal) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural.

“Orientação: Profa. Dra. Marcia Almeida de Melo”

“Coorientação: Prof. Dr. Walter Massa Ramalho”

Referências.

1. Cães.
2. Epidemiologia.
3. Gatos.
4. *Leishmania infantum*.
5. Sistema de informação geoespacial.
6. Zoonoses. I. Título.

CDU 616-036.22

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E SAÚDE ANIMAL

RAIZZA BARROS SOUSA SILVA

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal, da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do título de doutora em Ciência e Saúde Animal.

APROVADO EM 20/08/19

EXAMINADORES:



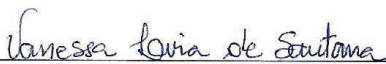
Profa. Dra. Marcia Almeida de Melo  
Presidente (Orientador)



Prof. Dr. Severino Silvano dos Santos Higino  
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG  
Membro Interno



Profa. Dra. Carolina de Sousa Américo Batista Santos  
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG  
Membro Externo



Profa. Dra. Vanessa Lira de Santana  
Faculdade Nova Esperança/FACENE  
Membro Externo



Prof. Dr. Walter Massa Ramalho  
Universidade de Brasília  
Membro Externo

*A Deus e a minha família, que são meu alicerce,*

*DEDICO*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, por nunca me abandonar e sempre aumentar a minha fé Nele, por iluminar e guiar os meus pensamentos e acalmar o meu coração nos momentos de angústia. “Senhor, faça-se em mim segundo a Tua vontade”.

À minha orientadora profa. Dra. Marcia Almeida de Melo pela paciência, orientação, ensinamentos e compreensão.

Aos meus pais, Neide e Itamêr, por serem minha fortaleza e me incentivarem na constante busca pelo conhecimento. São exemplo de dedicação, seriedade e honestidade. Amo vocês!

Aos meus irmãos, Júnior, Danthe, Julianne, Ana Stella, Jéssica e Débora, por sempre estarem presentes em minha vida na partilha de minhas conquistas e frustrações. Amo vocês!

Aos meus sobrinhos lindos e amados, Cecille, Maria Valentina, Maria Eduarda, Augusto e, em especial ao meu afilhado, Levi, fontes dos sorrisos mais sinceros, fazem com que eu esqueça todos os problemas.

A George, pelo seu amor, carinho e companheirismo; e à sua família, que agora também é minha, pelo acolhimento.

A minha filhinha peluda de quatro patas, Paty.

Aos meus cunhados e cunhadas, vocês são, na verdade, irmãos!

Ao pessoal do BIOLMOL pela colaboração na realização deste trabalho. Em especial, à Laysa, você foi essencial para essa conquista.

Aos membros da banca, por aceitarem participar e contribuir com esse trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal da Universidade Federal de Campina Grande e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo suporte financeiro.

## RESUMO

As leishmanioses são um complexo de doenças infecto-parasitárias, causadas por várias espécies de protozoários do gênero *Leishmania*. Possui caráter zoonótico e, por isso, é de grande importância para a Saúde Pública. Esta tese é composta por três capítulos sobre a leishmaniose visceral em cães e gatos na Paraíba, Brasil. Os dois primeiros são fruto do estudo epidemiológico da leishmaniose visceral canina (LVC) no município de Santa Luzia, localizado no semiárido paraibano entre os anos de 2015 e 2016. Durante as coletas de 779 amostras de sangue dos cães, foi aplicado um questionário epidemiológico aos tutores para o estudo dos fatores de risco, e as coordenadas geográficas da localização dos cães foram registradas para análise da distribuição espacial. A prevalência foi determinada através de três técnicas sorológicas, considerando positivas as amostras que reagiram em, pelo menos, duas delas. A prevalência de anticorpos anti-*Leishmania infantum* encontrada no município foi de 15% (117/779), sendo maior na zona urbana (15,2%) do que na rural (13,6%). O bairro que apresentou maior prevalência foi o Frei Damião com 26,4% (33/125), sendo considerado um fator de risco (OR = 1,245), e onde se confirmou um *cluster* de alto risco (RR = 2,48). Outros fatores de risco encontrados foram a criação semidomiciliar (OR = 1,798), para os cães da zona urbana, e a prática da caça (OR = 18,505), contato com bovinos (OR = 17,298) e ambiente onde o cão é criado (OR = 4,802), para os animais residentes na zona rural. Verifica-se elevada prevalência da LVC e ampla distribuição no município de Santa Luzia, porém de forma heterogênea. Sugere-se que medidas de controle e prevenção sejam priorizadas com base nos fatores e áreas de riscos identificados, a fim de maximizar a eficiência do programa e minimizar a chance de ocorrer novos casos caninos e humanos. No terceiro capítulo, descreveram-se os principais aspectos epidemiológicos, clínicos, anatomopatológicos, sorológicos e moleculares do primeiro relato de infecção por *L. infantum* em gatos domésticos no estado da Paraíba, Brasil. Os animais tinham lesões cutâneas multicêntricas, nodulares e ulceradas nas orelhas e focinho. Os gatos foram submetidos à avaliação clínica, seguida de exames sorológicos, molecular e parasitológico, com cultura e isolamento do parasita, e posterior caracterização isoenzimática. O caso 1 era uma gata adulta, sem raça definida e errante. O caso 2 era um gato adulto, sem raça definida e domiciliado. Ambos foram positivos para a presença de anticorpos anti-*L. infantum*. Na citologia dos nódulos cutâneos e linfonodos, foram visualizadas formas amastigotas de *Leishmania* spp. livres e no interior de macrófagos. Na histopatologia, as lesões se caracterizavam por dermatite granulomatosa nodular e/ou ulcerativa, associadas a formas amastigotas de *Leishmania* spp. intralesionais. Por meio da reação em cadeia da polimerase, amplificou-se a sequência do minicírculo do kDNA de *L. infantum*. Conclui-se que a infecção por *L. infantum* ocorre em gatos no estado da Paraíba, região Nordeste do Brasil e ressalta-se a necessidade de compreender o perfil imunológico e epidemiológico da leishmaniose visceral na população felina com vistas às medidas de controle em saúde pública.

**PALAVRAS-CHAVE:** Cães; epidemiologia; gatos; *Leishmania infantum*; sistema de informação geoespacial; zoonoses.

## ABSTRACT

Leishmaniasis is a complex of infectious parasitic diseases caused by several protozoan species of the genus *Leishmania*. It has a zoonotic character and is therefore of great importance for public health. This thesis is composed of three chapters about visceral leishmaniasis in dogs and cats in Paraíba, Brazil. The first two are the results of the epidemiological study of canine visceral leishmaniasis (CVL) in the municipality of Santa Luzia, located in the Paraíba semiarid region. During blood collection, an epidemiological questionnaire was applied to the owners to identify the risk factors, and the geographic coordinates of the dogs' location were recorded for spatial distribution analysis. In 2015 and 2016, 779 dog blood samples were collected. The prevalence was determined by three serological techniques, considering positive the samples that reacted in at least two of them. The prevalence of anti-*Leishmania infantum* antibodies found in the municipality was 15% (117/779), being higher in urban area (15.2%) than in rural area (13.6%). The neighborhood with the highest prevalence was Frei Damião with 26.4% (33/125), being considered a risk factor (OR = 1.245), and where a high risk cluster was confirmed (RR = 2.48). Other risk factors found were semidomestic breeding (OR = 1.798) for dogs living in the urban area, and hunting (OR = 18.505), contact with cattle (OR = 17.298) and area where the dog is raised (OR = 4.802) for animals residing in rural areas. There is a high prevalence and wide and heterogeneously distribution of CVL in the city of Santa Luzia. The results suggest control and prevention measures should be prioritized based on identified risk factors in each areas in order to maximize the control program efficiency and minimize the chance of new canine and human cases. In the third chapter, the main epidemiological, clinical, pathological, serological and molecular aspects of the first report of *L. infantum* infection in cats in Paraíba State, Brazil, were described. The animals had multicenter, nodular and ulcerated skin lesions in the ears and muzzle and were submitted to clinical evaluation, followed by serological, molecular and parasitological exams, with culture and isolation of the parasite, that was characterized by isozyme electrophoresis. Case 1 was a female adult cat, a stray mongrel cat. Case 2 was a male adult cat, mongrel and domiciled. Both were positive for the presence of anti-*L. infantum* antibodies. By fine needle aspiration cytology of cutaneous nodules and lymph nodes, amastigote forms of *Leishmania* spp. were found both free and inside macrophages. Histopathologically, the lesions were characterized by nodular and /or ulcerative granulomatous dermatitis associated with intralesional amastigote forms of *Leishmania* spp.. By Polymerase Chain Reaction, the *L. infantum* kDNA minicircle sequence was amplified. It was concluded that *L. infantum* infection occurs in cats in Paraíba State, Brazilian northeastern region. It is necessary to understand the immunological and epidemiological profile of visceral leishmaniasis in the feline population with a view to public health control measures.

**KEY-WORDS:** Cats; dogs; epidemiology; geospatial information system; *Leishmania infantum*; zoonoses



## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

	Páginas
FIGURA 1 - Mapa de localização do município de Santa Luzia, Paraíba, Brasil, categorizado por setores. ... ..	21
FIGURA 2 - (A) Imagem de satélite da cidade de Santa Luzia, com a limitação dos bairros. (B) Destaque para o bairro Frei Damião. Fonte: Adaptado do Google Earth. ... ..	27

### CAPÍTULO II

	Páginas
FIGURA 1 - Localização geográfica do município de Santa Luzia, Paraíba, Brasil. Destaque para a zona urbana (retângulo vermelho) e os seus bairros. ... ..	40
FIGURA 2 - A. Frequência da leishmaniose visceral canina (LVC) por bairros (zona urbana) e por setor censitário (zona rural). B. Georreferenciamento dos imóveis de acordo com o resultado sorológico para LVC em Santa Luzia, Paraíba, Brasil, entre 2015 e 2016 (com detalhe aproximado da zona urbana). ... ..	43
FIGURA 3 - Mapa de densidade de Kernel da leishmaniose visceral canina no município de Santa Luzia, Paraíba, Brasil (2015-2016). ... ..	44
FIGURA 4 - Aglomerados espaciais ( <i>clusters</i> ) de alta prevalência de leishmaniose visceral canina, detectados pela estatística de varredura espacial, segundo o modelo de Bernoulli, no município de Santa Luzia, Paraíba, Brasil (2015-2016). Imagem de satélite: Landsat / Copernicus; Google Satellite; Map data © 2015 Google. ... ..	45

### CAPÍTULO III

	Páginas
FIGURA 1 - Leishmaniose felina. A) Caso 1. Lesões nodulares nas extremidades das orelhas, focinho, lábios e pálpebra inferior direita. B. Caso 2. Lesões nodulares nas extremidades das orelhas e ulceradas no membro torácico esquerdo. C. Amastigotas de <i>Leishmania infantum</i> no interior de macrófago. Panótico rápido. Obj. 40x. D. Amastigotas de <i>L. infantum</i> livres. Panótico rápido. Obj. 40x. ... ..	60

**FIGURA 2 - Leishmaniose felina. A) Nódulo cutâneo da região auricular. B) Ao corte, o nódulo exibindo superfície homogênea e branco-amarelada. C) Espessamento da derme superficial e profunda por infiltrado inflamatório predominantemente histiocítico (asterisco) na região auricular (seta, cartilagem auricular). HE. Obj. 40x. D. Inúmeras amastigotas de *Leishmania infantum* em meio à reação inflamatória. HE. Obj. 40x. ... ..**

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I

	Páginas
<b>TABELA 1 - Fatores de risco associados à leishmaniose visceral canina no município de Santa Luzia, Paraíba, 2015-2016, estimados por regressão logística múltipla. ... ..</b>	<b>23</b>
<b>TABELA 2 - Análise univariada dos possíveis fatores de risco associados à leishmaniose visceral canina nas zonas urbana e rural de Santa Luzia, Paraíba, 2015-2016. ... ..</b>	<b>24</b>
<b>TABELA 3 - Fatores de risco associados à leishmaniose visceral canina por zonas do município de Santa Luzia, Paraíba, estimados por regressão logística múltipla, 2015-2016. ... ..</b>	<b>25</b>

### CAPÍTULO II

	Páginas
<b>TABELA 1 - Discriminação da prevalência da leishmaniose visceral canina por localidade do município de Santa Luzia, Paraíba, entre 2015 e 2016. ... ..</b>	<b>42</b>
<b>TABELA 2 - Agrupamento geográfico (<i>cluster</i>) da leishmaniose visceral canina em Santa Luzia, Paraíba, Brasil (2015-2016). ... ..</b>	<b>45</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

<b>BA</b>	Bahia
<b>BiolMol</b>	Laboratório de Biologia Molecular do Semiárido
<b>CAPES</b>	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
<b>CE</b>	Ceará
<b>CNPq</b>	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
<b>CSTR</b>	Centro de Saúde e Tecnologia Rural
<b>CVL</b>	<i>Canine visceral leishmaniasis</i>
<b>DATASUS</b>	Departamento de Informática do SUS
<b>DNA</b>	<i>Deoxyribonucleic acid</i> / Ácido desoxirribonucleico
<b>DPP</b>	<i>Dual path platform</i>
<b>EIE</b>	Ensaio imunoenzimático
<b>ELISA</b>	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i> / Ensaio de imunoabsorção enzimática
<b>et al.</b>	E outros
<b>FIOCRUZ</b>	Fundação Oswaldo Cruz
<b>GPS</b>	<i>Global positioning system</i> / Sistema de posicionamento global
<b>IBGE</b>	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
<b>IFPB</b>	Instituto Federal da Paraíba
<b>IOC</b>	Instituto Oswaldo Cruz
<b>kDNA</b>	DNA do cinetoplasto
<b><i>L. chagasi</i></b>	<i>Leishmania chagasi</i>
<b><i>L. infantum</i></b>	<i>Leishmania infantum</i>
<b>LACEN</b>	Laboratório Central de Saúde Pública da Paraíba
<b>LIT</b>	Meio de cultura <i>Liver Infusion Tryptose</i>
<b>LV</b>	Leishmaniose visceral
<b>LVC</b>	Leishmaniose visceral canina
<b>MA</b>	Maranhão
<b>MAPA</b>	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
<b>MG</b>	Minas Gerais
<b>MLEE</b>	<i>Multilocus enzyme electrophoresis</i> / Eletroforese de enzimas multilocus
<b>MS</b>	Mato Grosso do Sul
<b>NNN</b>	Meio de cultura Nicole, Novy e Neal
<b>n°</b>	Número
<b>O</b>	Oeste
<b>OR</b>	<i>Odds Ration</i>
<b>p</b>	Valor de p (probabilidade de significância)
<b>PA</b>	Pará
<b>PAAF</b>	Punção aspirativa por agulha fina
<b>PB</b>	Paraíba
<b>PCR</b>	Reação em cadeia da polimerase
<b>PE</b>	Pernambuco
<b>PI</b>	Piauí

<b>PVCLV</b>	Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral
<b>RJ</b>	Rio de Janeiro
<b>RN</b>	Rio Grande do Norte
<b>rpm</b>	Rotações por minuto
<b>S</b>	Sul
<b>Sinan Net</b>	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
<b>SP</b>	São Paulo
<b>sp.</b>	Espécie (Alguma espécie de um gênero)
<b>spp.</b>	Espécies (Várias espécies de um gênero)
<b>syn. / sin.</b>	Sinônimo
<b>TO</b>	Tocantins
<b>UFCG</b>	Universidade Federal de Campina Grande
<b>WHO</b>	<i>World Health Organization</i> / Organização Mundial da Saúde
°	Graus
'	Minutos
%	Porcentagem
<	Menor que
=	Igual
>	Maior que
≤	Menor ou igual
®	Marca registrada
μm	Micrometros
mm	Milímetros
cm	Centímetros
km <sup>2</sup>	Quilômetro quadrado
mL	Mililitro
mM	Milimolar
°C	Graus Celsius
x	Vezes
X	Por (multiplicação)

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	VII
LISTA DE TABELAS.....	IX
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.....	X
<b>1 INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	13
<b>2 REFERÊNCIAS</b> .....	14
<b>3 CAPÍTULO I</b> - Contrastes no perfil epidemiológico da leishmaniose visceral canina no semiárido da Paraíba, Brasil .....	16
ABSTRACT. ....	17
RESUMO .....	18
INTRODUÇÃO.....	19
MATERIAL E MÉTODOS.....	20
RESULTADOS .....	22
DISCUSSÃO .....	26
CONCLUSÃO.....	29
REFERÊNCIAS .....	30
<b>4 CAPÍTULO II</b> - Análise espacial da leishmaniose visceral canina em uma área de transmissão do semiárido paraibano.....	36
ABSTRACT.....	37
RESUMO .....	37
INTRODUÇÃO.....	38
MATERIAL E MÉTODOS.....	39
RESULTADOS .....	42
DISCUSSÃO .....	46
CONCLUSÃO.....	48
REFERÊNCIAS .....	49
<b>5 CAPÍTULO III</b> - Infecção natural por <i>Leishmania infantum</i> em gatos domésticos ( <i>Felis catus</i> ) em município de transmissão moderada no semiárido brasileiro .....	54
RESUMO .....	55
INTRODUÇÃO.....	56
MÉTODOS.....	57
RESULTADOS .....	59
DISCUSSÃO .....	63
REFERÊNCIAS .....	66
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	72
<b>7 APÊNDICE</b> .....	73

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

As leishmanioses são um complexo de doenças infecto-parasitárias, causadas por diversas espécies de protozoários do gênero *Leishmania*, pertencente à família Trypanosomatidae e ordem Kinetoplastida. Possui caráter zoonótico e, por isso, é de grande importância para a Saúde Pública. Pode apresentar-se nas formas cutânea, mucocutânea e visceral em humanos, canídeos e outros mamíferos. Enquanto a leishmaniose cutânea é a forma mais comum da doença, a leishmaniose visceral (LV) é a mais grave, quase sempre fatal se não tratada (BRASIL, 2014; WHO, 2017).

A LV possui ampla distribuição mundial, ocorre na Ásia, Europa, Oriente Médio, África e nas Américas. No ano de 2015, 3.456 (15,00%) dos novos casos de LV do mundo ocorreram nas Américas, sendo o Brasil responsável por 3.221 (93,20%) desses casos (WHO, 2017). No Brasil, a LV é causada pela *Leishmania infantum* (sin. *L. chagasi*) e transmitida principalmente pelo flebótomo *Lutzomyia longipalpi*. Desde a década de 1980, destacam-se a expansão e urbanização dessa enfermidade, com aumento no número de casos e até surtos em grandes cidades brasileiras, como São Luís (MA), Camaçari (BA), Natal (RN), Belo Horizonte (MG), Araçatuba (SP), Rio de Janeiro (RJ), Santarém (PA), Campo Grande (MS) e Palmas (TO) (BRASIL, 2014), persistindo como um importante problema de saúde pública, apesar dos esforços para o seu controle.

Os principais reservatórios silvestres do parasita são raposas e marsupiais. No entanto, a urbanização da LV deu aos cães o papel de reservatório principal. Outros animais já foram incriminados como possíveis reservatórios, como roedores sinantrópicos e gatos (LAINSON; RANGEL, 2005). Os gatos domésticos podem ser infectados e manifestar a doença acidentalmente (HOOGSTRAAL; DIETLEIN, 1964; MANCIANTI, 2004), como também são capazes de infectar os flebotomíneos, podendo agir como reservatórios (PENNISI et al., 2015).

No sertão, a infecção endêmica pode tornar-se epidêmica quando se reveste de caráter urbano, como registrado em Petrolina (PE), Teresina (PI), Fortaleza (CE), Caicó (RN), Mossoró (RN) e outras cidades de clima semiárido (CESSE, 1999; MATOS et al, 2006; BATISTA, 2008). O semiárido apresenta condições atmosféricas e de ocupação humana que permitem a existência de várias infecções por tripanossomatídeos, sendo a LV a principal do ponto de vista da saúde humana.

Em abril de 2015, no município de Santa Luzia, Paraíba, foi registrado o primeiro caso autóctone de LV humana na zona urbana, que resultou no óbito de uma criança de cinco anos

de idade. Em função desse fato, a Secretária de Saúde do município procurou o Grupo de Pesquisa de Biologia Molecular do Semiárido, da Unidade de Medicina Veterinária da UFCG, para firmar uma parceria a fim de realizar um trabalho epidemiológico, pois a situação da leishmaniose visceral canina (LVC) no município era desconhecida. Segundo o Ministério da Saúde, é necessário conhecer melhor a epidemiologia local da LV, com enfoque nos fatores de risco, para que as medidas de controles sejam adequadas para cada região (BRASIL, 2014).

O estudo epidemiológico desta infecção na espécie canina resulta em dados como a prevalência, que é um importante indicativo de risco e aponta, às agências e aos órgãos de controle locais, a necessidade de ações para o controle da endemia. O georreferenciamento tem demonstrado ser também uma ferramenta epidemiológica útil para a vigilância, pois permite conhecer a distribuição de uma doença e associá-la a fatores ambientais, sociais e culturais, definindo seus aspectos epidemiológicos, para que sejam adotados como indicadores de saúde (RIBEIRO et al., 2014).

Verifica-se grande aumento de artigos em revistas nacionais e internacionais que, através da distribuição temporal e espacial, reafirmam os aspectos epidemiológicos das leishmanioses, constataam as mudanças na sua distribuição e sugerem planejamentos mais efetivos nos programas de controle (TEIXEIRA-NETO et al., 2014; MAIA-ELKHOURY et al., 2016; OSTAD et al., 2016).

Logo, os objetivos desta tese foram conhecer e descrever o comportamento epidemiológico da LV frente ao principal hospedeiro reservatório doméstico, o cão, e como ela se apresentou em potenciais hospedeiros, dois felinos domésticos, no semiárido paraibano, Brasil.

## 2 REFERÊNCIAS

- BATISTA, M. G. N. **Levantamento de leishmaniose visceral no município de Caicó, Rio Grande do Norte, Brasil: soroprevalência de risco e isolamento do agente.** Orientadora: Marcia Almeida de Melo. 2008. 51f. Monografia (Especialização em Saúde Pública Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, 2008.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral.** 1 ed., 5. reimpr. – Brasília : Ministério da Saúde, 2014. 120 p.



- CESSE, E. A. P. **Expansão e Urbanização da Leishmaniose Visceral**: Estudo Epidemiológico [...]. Orientador: Eduardo Maia Freese de Carvalho. Dissertação. 1999. 150f. (Mestrado em Saúde Pública) – Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Aggeu Magalhães, Departamento de Saúde Coletiva, Recife, Pernambuco, 1999.
- HOOGSTRAAL H.; DIETLEIN D. R. Leishmaniasis in the Sudan Republic: recent results. **Bull. World Health Organ**, Geneva, v. 31, n. 1, p. 137-143, 1964.
- LAINSON, R.; RANGEL, E. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil: A Review. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 100, p. 811-827, 2005.
- MAIA-ELKHOURY, A. N. et al. Exploring Spatial and Temporal Distribution of Cutaneous Leishmaniasis in the Americas, 2001-2011. **PLoS Negl Trop Dis**, San Francisco, v. 10, n. 11, 2016.
- MANCIANTI, F. Feline leishmaniasis: what's the epidemiological role of the cat? **Parassitologia**, Roma, v. 46, n. 1-2, p. 203-206, 2004.
- MATOS, M. M. et al. Ocorrência da leishmaniose visceral em cães em Mossoró, Rio Grande do Norte. **Ciência Animal**, Fortaleza, v. 16, n.1, p. 51-54, 2006.
- OSTAD, M. et al. Control of Cutaneous Leishmaniasis Using Geographic Information Systems from 2010 to 2014 in Khuzestan Province, Iran. **PLoS One**, San Francisco, v. 11, n. 7, 2016.
- PENNISI, M. et al. LeishVet: update and recommendations on feline leishmaniosis. **Parasit Vectors**, Bulgária, v. 8, n. 302, p. 1-18, 2015.
- RIBEIRO, M. A. et al. Georreferenciamento: Ferramenta de Análise do Sistema de Saúde de Sobral-Ceará. **SANARE**, Sobral, v.13, n.2, p.63-69, 2014.
- TEIXEIRA-NETO, R. G. et al. Canine visceral leishmaniasis in an urban setting of Southeastern Brazil: an ecological study involving spatial analysis. **Parasit Vectors**, Bulgária, v. 7, n. 485, 2014.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. Global leishmaniasis update, 2006–2015: a turning point in leishmaniasis surveillance. **Weekly Epidemiological Record**, Genebra, n. 38, p. 557-565, 2017. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/258974/1/WER9238-557-565.pdf>. Acesso em 03 out. 2017.

### **3 CAPÍTULO I**

## **DIFERENCIAIS NO PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA NO SEMIÁRIDO DA PARAÍBA, BRASIL**

“Differentials in the epidemiological profile of canine visceral leishmaniasis in the semi-arid  
region of Paraíba, Brazil”

Raizza B.S. Silva, Diana A. Lima, Laysa F.F. Silva, Saul S. Fonseca, Marília A.S. Ferreira,  
Rafael C. Silva, Paulo P. de Andrade, Marcia A. de Melo

Trabalho a ser submetido à Revista  
Pesquisa Veterinária Brasileira,  
Seropédica – RJ. Qualis A4 – SJR 0,26.

## Diferenciais no perfil epidemiológico da leishmaniose visceral canina no semiárido da Paraíba, Brasil<sup>1</sup>

Raizza B. S. Silva<sup>2\*</sup>, Diana A. Lima<sup>3</sup>, Laysa F. F. Silva<sup>2</sup>, Saul S. Fonseca<sup>3</sup>, Marília A. S. Ferreira<sup>4</sup>, Rafael C. Silva<sup>5</sup>, Paulo P. de Andrade<sup>6</sup>, Marcia A. de Melo<sup>2</sup>

**ABSTRACT.-** Silva R.B.S., Lima D.A., Silva L.F.F., Fonseca S.S., Ferreira M.A.S., Silva R.C., Andrade P.P., Melo M.A. [Differentials in the epidemiological profile of canine visceral leishmaniasis in the semi-arid region of Paraíba, Brazil] Contrastes no perfil epidemiológico da leishmaniose visceral canina no semiárido da Paraíba, Brasil. 00(0):0-0. Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, Av. Universitária s/n, Bairro Santa Cecília, Patos, PB 58708-110, Brazil. E-mail: raizzabss@hotmail.com

The objective of this research was to estimate the prevalence of canine visceral leishmaniasis (CVL) in the municipality of Santa Luzia, located in the semi-arid region of Paraíba, and to identify the differences in risk factors related to its occurrence in urban and rural areas. In the years 2015 and 2016, 779 blood samples from dogs were collected. The prevalence was determined through three serological techniques, ELISA-S7® Kit, DPP® Rapid Test and EIE-LVC® Kit, considering the samples that reacted in at least two positive samples. Risk factors were determined through univariate and multivariate analyzes of the owners' responses to the epidemiological questionnaire. The prevalence of anti-*Leishmania infantum* antibodies in the studied municipality was 15.00% (117/779), being higher in the urban area (15.20%) than in the rural area (13.60%). The neighborhood with the highest prevalence was Frei Damião with 26.40% (33/125), being considered a risk factor (OR 1.245,  $p = 0.007$ ). Other risk factors were

<sup>1</sup> Recebido em.....

Aceito para publicação em.....

<sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal (PPGCSA), Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Patos, Av. Universitária s/n, Bairro Santa Cecília, Patos, PB 58708-110, Brasil. E-mails: raizzabss@hotmail.com, laysafranco@gmail.com, marcia.melo@ufcg.edu.br. \*Autores para correspondência: raizzabss@hotmail.com, marcia.melo@ufcg.edu.br

<sup>3</sup> Curso de Graduação em Medicina veterinária, UFCG, Campus de Patos, Av. Universitária s/n, Bairro Santa Cecília, Patos, PB 58708-110, Brasil. E-mails: dianalimamv@gmail.com, saul\_123ssf@hotmail.com

<sup>4</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Av. Prof. Moraes Rego 1235, Bairro Cidade Universitária, Recife, PE 50670-901, Brasil. E-mail: marilia\_andresa@hotmail.com

<sup>5</sup> Curso de Graduação em Ciências Biológicas, UFCG, Campus de Patos, PB, Brasil. E-mail: rafael.cosme34@gmail.com

<sup>6</sup> Departamento de Genética, Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Av. Prof. Moraes Rego 1235, Bairro Cidade Universitária, Recife, PE 50670-901, Brasil. E-mail: andrade@ufpe.br

the semi-domiciliary breeding (OR 1.798,  $p = 0.025$ ), in the urban area, and hunting dog (OR 18.505,  $p = 0.016$ ), contact with cattle (OR 17.298,  $p = 0.022$ ) and environment where (OR 4.802,  $p = 0.024$ ) in the rural area. The high prevalence of canine visceral leishmaniasis and its wide distribution in the municipality of Santa Luzia is verified. Epidemiological differences between urban and rural areas could be observed demonstrating the need for more adequate control measures for each locality and proving the urbanization process.

INDEX TERMS: neglected diseases, risk factors, *Leishmania infantum*, prevalence, zoonoses.

**RESUMO.-** O objetivo desta pesquisa foi estimar a prevalência da leishmaniose visceral (LV) canina no município de Santa Luzia, localizado no semiárido paraibano, e identificar as diferenças nos fatores de risco relacionados à sua ocorrência nas zonas urbana e rural. Nos anos de 2015 e 2016, coletou-se 779 amostras de sangue de cães. A prevalência foi determinada através de três técnicas sorológicas, Kit ELISA-S7®, teste rápido DPP® e Kit EIE-LVC®, considerando positivas as amostras que reagiram em pelo menos duas. Os fatores de risco foram determinados por meio das análises estatísticas uni e multivariada das respostas dos tutores ao questionário epidemiológico. A prevalência de anticorpos anti-*Leishmania infantum* encontrada no município estudado foi de 15,00% (117/779), sendo maior na zona urbana (15,20%) do que na rural (13,60%). O bairro que apresentou maior prevalência foi o Frei Damião com 26,40% (33/125), sendo considerado um fator de risco (OR 1,245;  $p=0,007$ ). Outros fatores de risco encontrados foram a criação semidomiciliar (OR 1,798;  $p=0,025$ ), na zona urbana, e cão de caça (OR 18,505;  $p=0,016$ ), contato com bovinos (OR 17,298;  $p=0,022$ ) e ambiente onde o cão é criado (OR 4,802;  $p=0,024$ ), na zona rural. Verifica-se a elevada prevalência da leishmaniose visceral canina e a sua ampla distribuição no município de Santa Luzia. Diferenças epidemiológicas entre as zonas urbana e rural puderam ser observadas, demonstrando a necessidade de medidas de controle mais adequadas para cada localidade e comprovando o processo de urbanização.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: doenças negligenciadas, fatores de riscos, *Leishmania infantum*, prevalência, zoonoses.

## INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral (LV) é uma doença tropical negligenciada, de caráter zoonótico, causada pelo protozoário *Leishmania infantum* (sin. *L. chagasi*), que acomete o sistema fagocítico mononuclear de humanos, canídeos e outros mamíferos (WHO 2017a).

A LV é transmitida por insetos flebotomíneos e a principal espécie transmissora no Brasil é *Lutzomyia longipalpis*. Essa zoonose tem ampla distribuição mundial ocorrendo na Ásia, Europa, Oriente Médio, África e nas Américas. No ano de 2015, 15,00% (3456) dos novos casos de LV do mundo ocorreram nas Américas, sendo o Brasil responsável por 3336 (96,50%) desses casos (WHO 2017b), com apenas duas Unidades da Federação, Acre e Santa Catarina, sem registro de casos autóctones de LV entre os anos de 2007 a 2015, segundo dados do Sinan Net (Brasil 2017).

No Brasil, a leishmaniose visceral se encontra em expansão e urbanização desde a década de 1980. Estes fenômenos estão relacionados com as condições em que habitam os cães e seus tutores (ocupação desordenada e condições de vida precárias), a migração de seres humanos e de seus animais de estimação, as mudanças climáticas e o desmatamento, além da dispersão e da urbanização do vetor (WHO 2002, Costa 2008, Salomón et al. 2015).

As estratégias de controle da LV no Brasil, segundo o Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (PVCLV), estão baseadas no diagnóstico e tratamento precoce de casos humanos, no controle dos vetores com uso de inseticidas e na detecção dos cães infectados, através de análises sorológicas, com posterior eutanásia dos animais positivos (Brasil 2014), visto que o cão é o principal reservatório da doença em áreas urbanas endêmicas. Para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina (LVC), o Ministério da Saúde preconiza a utilização do teste rápido DPP® (Bio-Manguinhos), como triagem, e o EIE-LVC® (Bio-Manguinhos) como teste confirmatório (Brasil 2011).

Em 2016, o primeiro medicamento para tratamento da LVC foi registrado no MAPA e em 2017 começou a ser comercializado no Brasil. Porém, não é indicado como uma medida de saúde pública para o controle da doença (Brasil 2016). De acordo com a portaria interministerial nº 1.426, de 11 de julho de 2008, ainda é proibido o tratamento da LVC com produtos de uso humano ou não registrado no Ministério da Agricultura,

Pecuária e Abastecimento (MAPA). Essa decisão do Ministério da Saúde e do MAPA tem como principais fundamentos: a possibilidade de cães em tratamento se manterem como reservatórios e fonte de infecção para o vetor; e a existência de risco de indução a seleção de cepas resistentes aos medicamentos disponíveis para o tratamento das leishmanioses em seres humanos (Brasil 2008).

Na Paraíba, em 2015, a incidência da LV humana foi de 1,2 casos por 100.000 habitantes (Brasil 2017). Em abril do mesmo ano, no município de Santa Luzia-PB, foi registrado um óbito por leishmaniose visceral de uma criança de cinco anos de idade, residente do bairro São Sebastião. Segundo a Vigilância em Saúde da Prefeitura Municipal de Santa Luzia, após esse registro, considerado autóctone, foram realizadas ações preconizadas pelo Ministério da Saúde nas proximidades do caso humano (bairros São Sebastião e Nossa Senhora de Fátima), tais como: investigação entomológica, borrifação de inseticida, saneamento ambiental, inquérito sorológico canino e eutanásia dos cães reagentes. Em função do desconhecimento da LVC no restante do município, o objetivo do estudo foi estimar a prevalência dessa enfermidade em todo o município de Santa Luzia, semiárido paraibano, visando identificar os possíveis fatores de risco, para que fossem tomadas ações de saúde pública voltadas ao controle da doença e prevenção de novos casos.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo transversal foi realizado nas zonas urbana e rural de Santa Luzia (06°52'S e 36°55'O), município do semiárido paraibano (Fig.1), com uma área de 455 km<sup>2</sup>, e uma população de 15.341 habitantes, segundo estimativa do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) para o ano de 2016. Considerando a existência de um cão para cada sete habitantes, a população canina estimada foi de 2.191. O número de animais utilizados foi determinado pela fórmula para amostras aleatórias simples, proposta por Thrusfield (2007), considerando uma prevalência esperada de 50%, nível de confiança de 99% e erro amostral de 4%. O número mínimo de animais a serem utilizados foi de 706, mas, como medida de segurança, foram acrescentados 10% ao número amostral.

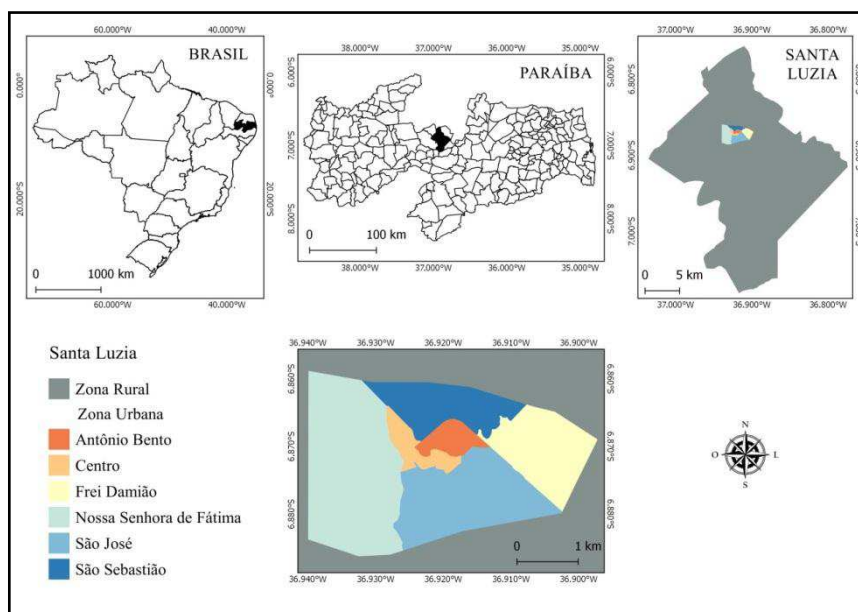


Fig.1. Mapa de localização do município de Santa Luzia, Paraíba, Brasil, categorizado por setores.

As coletas foram realizadas entre julho de 2015 e julho de 2016 e participaram do estudo cães acima de seis meses, sem distinção de raça ou sexo. Na zona urbana a amostragem foi por conveniência, foram montados pontos de coletas, um ponto em cada bairro, após ampla campanha de divulgação na rádio local e pelos Agentes de Saúde e Endemias para conhecimento da população. A amostragem na zona rural foi por conglomerados, a coleta foi realizada em 16 comunidades rurais pré-selecionados por sorteio aleatório, sendo contempladas todas as casas e todos os cães das localidades sorteadas.

O sangue foi obtido por venopunção da jugular ou cefálica, com o auxílio de seringa de 5mL e agulha 25X8mm estéreis e de uso individual. Um total de 5mL de sangue foi depositado de imediato em tubo contendo citrato de sódio a 4%. Após a coleta, o material foi encaminhado ao Laboratório de Biologia Molecular do Semiárido (BiolMol/UFCG), campus Patos-PB. As amostras foram centrifugadas a 2000 rpm durante 5 minutos para separação do plasma, que foi armazenado em microtubos de 1,5mL, identificados e estocados a -20°C até a realização dos ensaios sorológicos.

Os testes sorológicos utilizados para o diagnóstico da LVC foram: Kit ELISA-S7® (Biogene Ind. e Com. Ltda) realizado pela equipe do BiolMol; teste rápido DPP® (Bio-Manguinhos), realizado pelos Agentes de Endemias da Secretaria de Saúde de Santa Luzia; e o ensaio imunoenzimático (Kit EIE-LVC®, Bio-Manguinhos), realizado pelo Laboratório Central de Saúde Pública da Paraíba (LACEN), apenas nas amostras que

reagiram no DPP®. Todos os ensaios foram realizados seguindo os protocolos dos fabricantes. Para determinar a prevalência da LVC, foram consideradas positivas as amostras que reagiram em, pelo menos, dois ensaios.

Os tutores dos cães responderam a um questionário epidemiológico com o intuito de identificar condições socioambientais que atuem como possíveis fatores de risco para a doença. A análise dos fatores de risco associados à soropositividade foi efetuada em duas etapas: análise univariada e multivariada. As variáveis independentes foram categorizadas e codificadas e as que apresentaram um valor de  $p \leq 0,20$  pelo teste de qui-quadrado ou teste exato de Fisher (Zar 1999) foram usadas na análise multivariada através de regressão logística múltipla (Hosmer & Lemesho 2000). O nível de significância adotado na análise múltipla foi de 5%. As análises foram realizadas com o programa IBM SPSS Statistics Base 22.0.

O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), sob o protocolo nº 283/2015.

## RESULTADOS

Das 779 amostras de sangue coletadas de cães no município de Santa Luzia para o inquérito sorológico, 676 eram de cães da zona urbana e 103, da zona rural. Considerando como positivos os cães reagentes em, pelo menos, duas sorologias, obteve-se uma soroprevalência de 15,02% (117/779; IC 95% 12,51-17,53%) no município de Santa Luzia; sendo que 103 cães positivos eram da zona urbana e 14, da zona rural, resultando em prevalências de 15,24% (103/676; IC 95% 12,53-17,95%) e 13,59% (14/103; IC 95% 6,97-20,21%), respectivamente. Não houve diferença significativa na positividade dos cães das duas áreas ( $p = 0,774$ ).

A maioria dos tutores dos cães reagentes possuía uma renda familiar menor que dois salários mínimos (63,47%). Foi possível observar que à medida que aumenta a condição econômica da família, menor é a prevalência da LVC. Em relação à população canina com leishmaniose visceral, 61,54% (72/117) eram machos, 25,64% (30/117) possuíam entre dois e quatro anos e 74,36% (87/117) eram sem raça definida (SRD), sem diferença significativa entre as categorias dessas variáveis ( $p > 0,05$ ).

A criação semidomiciliar prevaleceu em 68,29% (532/779) dos casos, e 83,76% (98/117) dos positivos eram criados dessa forma. O contato dos cães com outros animais, como outros cães, gatos, equinos, ruminantes, aves e/ou animais silvestres, foi



relatado por 67,27% (524/779) dos tutores; 71,79% (84/117) dos cães positivos mantinha algum tipo de contato com outros animais, dentre eles se destacaram outros cães (n=60), aves (n=30) e gatos (n=26). A limpeza do local onde o cão ficava era realizada por 90,50% (705/779) dos tutores, mas a frequência dessa limpeza variou de diária a mensal, e a frequência da LVC aumentou à medida que aumentava o período sem limpeza.

Apenas 7,70% dos cães (60/779) já tinham feito uso de coleiras repelentes, sendo que, no momento da coleta, nenhum animal estava usando esse tipo de coleira e nenhum cão havia sido vacinado contra LVC.

Na análise dos fatores de risco para leishmaniose visceral canina em todo o município, foram selecionadas na univariada: bairro, raça, tipo de criação, contato com pequenos ruminantes, frequência de limpeza, sempre morou em Santa Luzia, cão de caça e onde dorme. Os fatores de risco para LVC no município de Santa Luzia, identificados na análise multivariada por regressão logística múltipla, foram o bairro onde os animais habitavam (Frei Damião), o tipo de criação (semidomiciliar) e frequência da limpeza (mensal) do local de permanência do cão (Quadro 1).

**Quadro 1. Fatores de risco associados à leishmaniose visceral canina no município de Santa Luzia, Paraíba, 2015-2016, estimados por regressão logística multivariada**

<b>Fatores de risco</b>	<b>Odds ratio</b>	<b>IC 95%<sup>a</sup></b>	<b>Valor de p</b>
<b>Tipo de criação (semidomiciliar)</b>	2,310	1,442-3,700	0,000
<b>Frequência de limpeza (mensal)</b>	1,539	1,142-2,076	0,005
<b>Bairro (Frei Damião)</b>	1,280	1,095-1,496	0,002

<sup>a</sup> IC 95% = Intervalo de confiança de 95%

Em relação à população de cães com LV e residentes no bairro Frei Damião, pôde-se observar que 90,00% eram criados de forma semidomiciliar e todos os cães positivos do município que tinham seu local higienizado mensalmente residiam nesse bairro; 75,80% dos tutores desses cães possuíam uma renda familiar inferior a dois salários mínimos.

A análise dos fatores de risco também foi realizada a fim de determinar as diferenças entre a zona urbana e a rural, os resultados obtidos estão expressos nos quadros 2 e 3. Os fatores de risco da zona urbana foram o bairro (Frei Damião) e o tipo de criação (semidomiciliar). Os fatores de risco da zona rural foram cães de caça, contato com bovinos e criação dos cães na terra e no cimento.

**Quadro 2. Análise univariada dos possíveis fatores de risco associados à leishmaniose visceral canina nas zonas urbana e rural de Santa Luzia, Paraíba, 2015-2016**

Variável	Zona Urbana			Zona Rural		
	Nº total de animais	Animais positivos (%)	Valor de p	Nº total de animais	Animais positivos (%)	Valor de p
Bairro						
Centro	79	7 (8,9%)	0,001*			Não se aplica
São Sebastião	98	9 (9,2%)				
Nossa Senhora de Fátima	86	8 (9,3%)				
Antônio Bento	61	7 (11,5%)				
São José	226	39 (17,3%)				
Frei Damião	125	33 (26,4%)				
Renda familiar						
Menos de 2 Salários Mínimos	417	63 (15,1%)	0,562	68	10 (14,7%)	0,496
2 a 4 Salários Mínimos	211	35 (16,6%)		22	2 (9,1%)	
4 a 6 Salários Mínimos	31	3 (9,7%)		3	1 (33,3%)	
Mais de 6 Salários Mínimos	16	1 (6,3%)		0	0	
Sexo						
Macho	384	64 (16,7%)	0,235	62	8 (12,9%)	0,802
Fêmea	292	39 (13,4%)		41	6 (14,6%)	
Idade (Meses)						
6 – 12	106	11 (10,4%)	0,560	21	0	0,088*
13 – 24	150	27 (18,8%)		20	1 (5,0%)	
25 – 48	170	25 (14,7%)		22	5 (22,7%)	
48 – 72	133	21 (15,8%)		24	4 (16,7%)	
> 72	117	19 (16,2%)		16	4 (25,0%)	
Raça						
CRD	253	27 (10,7%)	0,011*	11	3 (27,3%)	0,170*
SRD	423	76 (18,0%)		92	11 (12,0%)	
Tipo de criação						
Domiciliar	192	11 (5,7%)	0,000*	3	0	0,521
Semidomiciliar	458	89 (19,4%)		74	9 (12,2%)	
Solto	26	3 (11,5%)		26	5 (19,2%)	
Contato com animais						
Não	251	32 (12,7%)	0,167*	4	1 (25,0%)	0,448
Sim	425	71 (16,7%)		99	13 (13,1%)	
Contato com equídeos						
Não	664	102 (15,4%)	1,000	62	8 (12,9%)	0,802
Sim	12	1 (8,3%)		41	6 (14,6%)	
Contato com silvestres						
Não	670	101 (15,1%)	0,229	86	11 (12,8%)	0,698
Sim	6	2 (33,3%)		17	3 (17,6%)	
Contato com felinos						
Não	534	80 (15,0%)	0,720	86	11 (12,8%)	0,698
Sim	142	23 (16,2%)		17	3 (17,6%)	
Contato com cães						
Não	404	55 (13,6%)	0,152*	9	2 (22,2%)	0,353
Sim	272	48 (17,6%)		94	12 (12,8%)	
Contato com suínos						
Não	671	102 (15,2%)	0,564	81	9 (11,1%)	0,172*
Sim	5	1 (20,0%)		22	5 (22,7%)	
Contato com pequenos ruminantes						
Não	661	102 (15,4%)	0,713	52	12 (23,1%)	0,008*
Sim	15	1 (6,7%)		51	2 (3,9%)	
Contato com bovinos						
Não	671	102 (15,2%)	0,564	46	3 (6,5%)	0,083*
Sim	5	1 (20,0%)		57	11 (19,3%)	

**Continua...**

**Quadro 2. (Continuação)**

Variável	Zona Urbana			Zona Rural		
	Nº total de animais	Animais positivos (%)	Valor de p	Nº total de animais	Animais positivos (%)	Valor de p
Contato com aves						
Não	529	83 (15,7%)	0,534	24	4 (16,7%)	0,734
Sim	147	20 (13,6%)		79	10 (12,7%)	
Ambiente onde é criado						
Terra	288	50 (17,4%)	0,270	97	12 (12,4%)	0,197*
Cimento	271	34 (12,5%)		1	0	
Terra e Cimento	117	19 (16,2%)		5	2 (40,0%)	
Limpeza do local						
Não	18	3 (16,7%)	0,746	56	10 (17,9%)	0,249
Sim	658	100 (15,2%)		47	4 (8,5%)	
Frequência de limpeza						
Diária	478	59 (12,3%)	0,020*	5	0	0,158*
Semanal	159	35 (22,0%)		29	1 (3,4%)	
Quinzenal	10	3 (30,0%)		13	3 (23,1%)	
Mensal	11	3 (27,3%)		0	0	
Presença de carrapatos						
Não	106	17 (16,0%)	0,803	20	2 (10,0%)	1,000
Sim	570	86 (15,1%)		83	12 (14,5%)	
Sempre morou em Santa Luzia						
Não	78	7 (9,0%)	0,102*	6	0	1,000
Sim	598	96 (16,1%)		97	14 (14,4%)	
Adotado						
Não	19	6 (31,6%)	0,122*	36	3 (8,3%)	0,205
Da Rua	179	29 (16,2%)		31	7 (22,6%)	
Outro Tutor	470	68 (14,5%)		36	4 (11,1%)	
Cão de caça						
Não	616	92 (14,9%)	0,484	87	9 (10,3%)	0,025*
Sim	60	11 (18,3%)		16	5 (31,3%)	
Local onde dorme						
Dentro de casa	135	16 (11,9%)	0,279	3	0	1,000
No peridomicílio	526	86 (16,3%)		100	14 (14,0%)	
Na rua	15	1 (6,7%)		-	-	
Como passa a noite						
Solto	460	66 (14,3%)	0,348	46	8 (17,4%)	0,312
Amarrado	216	37 (17,1%)		57	6 (10,5%)	
Fez uso de coleira repelente						
Não	618	97 (15,7%)	0,278	101	14 (13,9%)	1,000
Sim	58	6 (10,3%)		2	0	

\* Variáveis usadas na regressão logística múltipla.

**Quadro 3. Fatores de risco associados à leishmaniose visceral canina por zonas do município de Santa Luzia, Paraíba, estimados por regressão logística múltipla, 2015-2016**

Zona	Fatores de risco	Odds ratio	IC 95% <sup>a</sup>	Valor de p
<b>Urbana</b>	Bairro (Frei Damião)	1,245	1,063-1,458	0,007
	Tipo de criação (Semidomiciliar)	1,798	1,075-3,008	0,025
<b>Rural</b>	Cão de caça (Sim)	18,505	1,709-200,348	0,016
	Contato com bovinos (Sim)	17,298	1,502-199,277	0,022
	Ambiente onde é criado (Terra e cimento)	4,802	1,229-18,758	0,024

<sup>a</sup> IC 95% = Intervalo de confiança de 95%

## DISCUSSÃO

Estudos epidemiológicos dessa natureza apontam às agências e aos órgãos públicos ações necessárias ao controle dessa endemia em locais prioritários (Barbosa et al. 2014), considerando que há dificuldades nos recursos financeiro e humano para o desenvolvimento do PVCLV (Teixeira-Neto et al. 2014) e que a prevalência da infecção canina é um importante indicativo de risco para a ocorrência da LV humana (Oliveira et al. 2008, De Araújo et al. 2013, Teixeira-Neto et al. 2014).

Estudos mostram uma ampla variação das taxas de prevalência da LVC nos municípios brasileiros, com valores entre 0,17% em São José do Rio Preto, São Paulo (De Nardo et al. 2011), a 55,00% em Mossoró, Rio Grande do Norte (Amóra et al. 2004). Esse tipo de pesquisa produz resultados variáveis, dependendo das características do local do estudo, da população alvo e dos métodos de diagnóstico utilizados. Pimentel et al. (2015) detectaram uma prevalência de 19,00% em Petrolina, Pernambuco, região também semiárida. Fernandes et al. (2016), em estudo em cinco cidades paraibanas, encontraram prevalências variando de 3,60% a 18,40%, em Campina Grande e Patos, respectivamente. Também em Patos, na zona rural, Silva et al. (2016) identificaram uma prevalência de LVC de 11,33%.

A LVC é, geralmente, mais prevalente na zona rural do que na urbana, visto que os animais residentes em áreas rurais possuem um risco maior de aquisição da doença, o que está relacionado à presença de características ambientais que favorecem a proliferação e manutenção do vetor (Amora et al. 2006, Rondon et al. 2008, Almeida et al. 2012). Porém, em algumas regiões, vêm ocorrendo mudanças nesse padrão, com observação de uma maior predominância da doença em áreas urbanas (França-Silva et al. 2003, Guimarães et al. 2017), o que também foi identificado no presente estudo.

Esse processo de urbanização ocorre desde a década de 1980 e está associado a vários fenômenos como, por exemplo, à migração de seres humanos e de seus animais de estimação (associada a uma ocupação desordenada e condições de vida precárias), às mudanças climáticas e desmatamento, além da dispersão e adaptação do vetor (WHO 2002, Costa 2008, Salomón et al. 2015). De acordo com Bevilacqua et al. (2001), as condições precárias de vida existentes nas periferias das cidades juntamente com a proximidade dessas áreas com o ambiente rural, que permitem que a LV adentre às áreas urbanas e se expanda geograficamente.

A maior proporção de positivos no bairro Frei Damião (26,40%) em relação ao bairro São Sebastião (9,18%), local do caso humano, provavelmente ocorreu porque já havia sido realizado um inquérito canino e eutanásia dos cães positivos neste último, como recomenda o PVCLV. O inquérito canino realizado pela prefeitura também contemplou o bairro vizinho, Nossa Senhora de Fátima (9,30%), sendo indicado um estudo de coorte para se conhecer a incidência e o verdadeiro risco de adoecer de leishmaniose visceral nos bairros de Santa Luzia.

O bairro Frei Damião se comportou também como um fator de risco geral e da zona urbana, o que pode estar associado à presença de desigualdades locais, por ser um bairro periférico que cresce de forma desordenada, apresentando áreas remanescentes de caatinga (Fig.2) com desmatamento, tornando-se um local favorável para o contato de reservatórios silvestres e do vetor com as pessoas e com os cães. Neste bairro, a maioria dos tutores possuía renda inferior a dois salários mínimos e, segundo a Organização Mundial da Saúde (2017a), a leishmaniose está intimamente associada à falta de recursos financeiros, sendo conhecida como uma doença que acomete populações de baixa renda. Em Belo Horizonte, Sudeste do Brasil, a LV humana foi correlacionada com a baixa renda familiar (De Araújo et al. 2013), sendo esta característica, inclusive, apontada como fator de risco para ocorrência da doença canina (Coura-Vital et al. 2011).

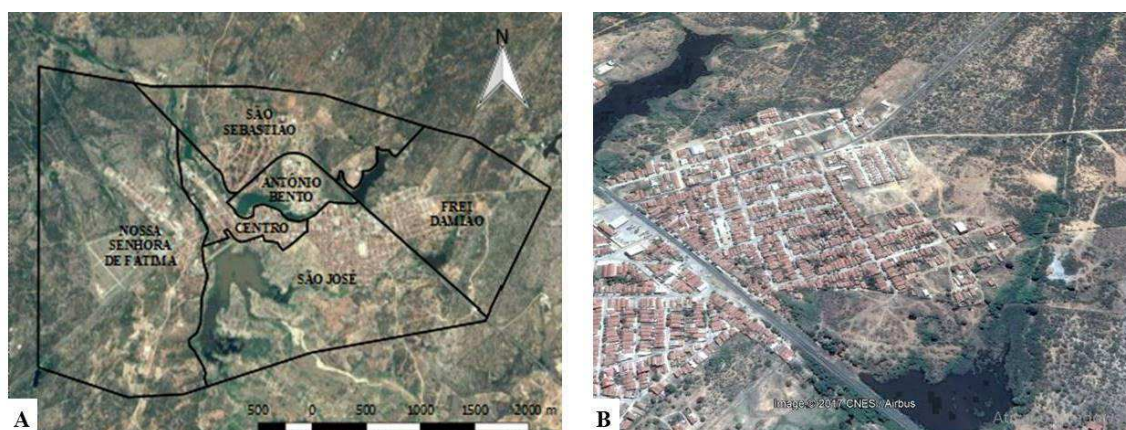


Fig.2. (A) Imagem de satélite da cidade de Santa Luzia, com a limitação dos bairros. (B) Destaque para o bairro Frei Damião. Fonte: Adaptado do Google Earth.

O desmatamento de áreas periféricas, como ocorrido no bairro Frei Damião, é comum nas cidades em expansão, provoca mudanças ecológicas no ambiente, com aumento da quantidade de material orgânico em decomposição que, associado à falta de condições

sanitárias favoráveis para a instalação da população, interfere positivamente no ciclo de vida dos flebotomíneos e contribui para a expansão da doença (Aversi-Ferreira et al. 2014, Teles et al. 2015). De fato, a influência de ações antropogênicas na epidemiologia da LV tem sido relatada em estudos conduzidos na região Nordeste do Brasil. Cerbino Neto et al. (2009), em estudo sobre a LV humana em Teresina-PI, e Cesse et al. (2001), na cidade de Petrolina-PE, observaram a maior ocorrência da doença em áreas periféricas dos municípios, com ocupação urbana rápida e recente, evidenciando a presença da LV em locais alterados pelo homem.

Outro fator de risco em todo o município e na zona urbana foi a criação dos animais em regime semidomiciliar, em que os cães passam parte do dia soltos fora de casa. Essa é uma prática comum na região: alguns tutores costumam deixar os cães soltos o dia todo, prendendo-os apenas para dormir; e a maioria solta seus cães no final da tarde e início da noite, período com clima mais ameno. Este é o período de maior atividade do vetor *Lu. longipalpis*, que, segundo Troncarelli et al. (2012), possui hábitos crepuscular e noturno. Fernandes et al. (2016) também encontraram essa associação e Belo et al. (2013) observaram que as chances de adquirir a infecção por *Leishmania* sp. é menor nos animais com criação restritamente doméstica.

Na zona rural, a permanência do cão em ambiente de terra e cimento foi identificada como fator de risco, e foi também relatado por Fernandes et al. (2016). A criação de animais nessas condições pode dificultar a limpeza do local e o favorecimento do acúmulo de matéria orgânica. Em contraponto, Azevedo et al. (2008) não identificaram o tipo de piso como um fator de risco para infecção, ainda que a grande maioria dos quintais das residências avaliadas era de terra ou de terra e cimento batido.

A limpeza apenas mensal do local onde o cão vive, apontado como fator de risco no município, é justificado também pelo acúmulo de matéria orgânica, criando um habitat ideal para a ovoposição e proliferação do vetor. O lixo também pode atrair animais sinantrópicos, como os roedores, que já foram incriminados como possíveis reservatórios (Lainson e Rangel 2005).

De acordo com Dantas-Torres (2009), o modo de vida dos animais é um importante fator de risco para LVC. Vários estudos já demonstraram que fatores relacionados aos hábitos, como função de guarda e o livre acesso à rua ou exterior da casa, são fatores associados ao risco de infecção canina, pois expõem os animais a um maior contato com o vetor (Amóra et al. 2006, Almeida et al. 2012).

Nesse contexto, a atividade de caça também pode expor os animais a um maior risco de infecção, o que ocorreu na zona rural. De forma semelhante, Maziero et al. (2014) observaram em Santa Catarina, Sul do Brasil, uma maior positividade em cães da raça veadeiro, conhecidos pela atividade de caça, sugerindo que estes animais estariam mais susceptíveis ao vetor, devido à atividade de caça em matas e florestas. Segundo Rondon et al. (2008), regiões de mata e ambientes com grande quantidade de matéria orgânica favorecem o desenvolvimento e proliferação do vetor, facilitando à infecção canina. Essa atividade, muito comum no Nordeste, geralmente é desenvolvida no período da noite, outro fator que beneficia o contato com o vetor.

O contato com bovinos, também foi apontado como fator de risco da zona rural, fato verificado por outros autores (Morrison et al. 1993, Barnett et al. 2005, Bern et al. 2010). A associação entre cães positivos e o contato com bovinos pode estar relacionada à presença das fezes, uma vez que as fêmeas colocam os ovos em solo úmido e rico em matéria orgânica (Dias et al. 2003). Além disso, em pesquisa realizada em área endêmica na Colômbia, bovinos e suínos foram identificados como as fontes alimentares preferenciais de *Lu. longipalpis* (Morrison et al. 1993). Um outro fato que se contrapõe a este é que outros estudos verificaram que o risco de adoecer de LV estava associado ao uso de inseticidas contra ectoparasitas em bovinos, sugerindo o deslocamento da alimentação de flebótomos para humanos e cães (Barnett et al. 2005; Bern et al. 2010). Por outro lado, a importância da espécie bovina tem tido controvérsias, associando-se a um risco aumentado em alguns estudos e diminuição do mesmo em outros, advertindo sobre a complexidade do efeito dos bovinos na abundância e comportamento de alimentação do vetor e taxas de infecção por *Leishmania* sp. (Bern et al. 2010).

## CONCLUSÃO

A urbanização da LV foi evidenciada no município, assim como diferenças epidemiológicas entre as zonas urbana e rural. Com esse estudo, as medidas de controle e preventivas devem ser priorizadas com base nos fatores de risco identificados em cada área, maximizando a eficiência do programa e minimizando a chance de ocorrer novos casos.

**Agradecimentos.-** À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) por concessões de bolsas de estudo e à Prefeitura Municipal de Santa Luzia-PB.

**Declaração de conflito de interesse.-** Os autores não têm interesses conflitantes.

## REFERÊNCIAS

Almeida A.B.P.F., Sousa V.R.F., Cruz F.A.C.S., Dahroug M.A.A., Figueiredo F.B. & Madeira M.F. 2012. Canine visceral leishmaniasis: seroprevalence and risk factors in Cuiabá, Mato Grosso, Brazil. *Rev. Bra. Parasitol. Vet.* 21(4): 359-365.

Amóra S.S.A., Santos M.J., Saraiva J.C., Feijó F.M.C., Filgueira K.D., Rego R.O. & Alves N.D. 2004. Detecção de anticorpos anti-*Leishmania chagasi* em cães da área rural do município de Mossoró, Rio Grande do Norte. *Ciênc. Anim. Bras.* 5:166–168.

Amóra S.S.A., Santos M.J.P., Alves N.D., Costa S.C.G., Calabrese K.S., Monteiro A.J. & Rocha M.F.G. 2006. Fatores relacionados com a positividade de cães para leishmaniose visceral em área endêmica do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. *Cienc. Rural.* 36(6): 1854-1859.

Aversi-Ferreira R.A.G.M.F., Galvão J.D., da Silva S.F., Cavalcante G.F., da Silva E. V., Bhatia-Dey N. & Aversi-Ferreira T.A. 2014. Geographical and Environmental Variables of Leishmaniasis Transmission, *Leishmaniasis - Trends in Epidemiology, Diagnosis and Treatment*, Dr. David Claborn (Ed.), InTech. Disponível em <<https://www.intechopen.com/books/leishmaniasis-trends-in-epidemiology-diagnosis-and-treatment/geographical-and-environmental-variables-of-leishmaniasis-transmission>> Acesso em 20 out. 2017

Azevedo M.A.A., Dias A.K.K., De Paula H.B., Perri S.H.V. & Nunes C.M. 2008. Avaliação da leishmaniose visceral canina em Poxoréo, Estado do Mato Grosso, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 17(3): 123-127.



Barbosa D.S., Belo V.S., Rangel M.E., Werneck G.L. 2014. Spatial analysis for identification of priority areas for surveillance and control in a visceral leishmaniasis endemic area in Brazil. *Acta Trop.* 131:56-62.

Barnett P.G., Singh S.P., Bern C., Hightower A.W. & Sundar S.A. 2005. Virgin soil: the spread of visceral leishmaniasis into uttar pradesh, india. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 73(4): 720-725

Belo V.S., Struchiner C.J., Werneck G.L., Barbosa D.S., Oliveira R.B., Neto R.G.T. & Silva E.S. 2013. A systematic review and meta-analysis of the factors associated with *Leishmania infantum* infection in dogs in Brazil. *Vet. Parasitol.* 195:1-13.

Bern C., Courtenay O. & Alvar J. 2010. Of Cattle, Sand Flies and Men: A Systematic Review of Risk Factor Analyses for South Asian Visceral Leishmaniasis and Implications for Elimination. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 4(2): e599.

Bevilacqua P.D., Paixão H.H., Modena C.M. & Castro M.C.P.S. 2001. Urbanização da leishmaniose visceral em Belo Horizonte. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 53(1): 1-8.

Brasil. 2008. Portaria Interministerial nº 1.426, de 11 de julho de 2008. Proíbe o tratamento de leishmaniose visceral canina com produtos de uso humano ou não registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Ministério da Saúde/ Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília. 2p.

Brasil. 2011. Esclarecimentos sobre substituição do protocolo diagnóstico da leishmaniose visceral canina (LVC). Nota Técnica Conjunta nº 1, Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis/Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis, Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde, Brasília. 3p.

Brasil. 2014. Ministério da Saúde. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. 1th ed. Brasília (DF): Ministério da Saúde. 120 p.

Brasil. 2016. Nota Técnica Conjunta nº 001/2016 MAPA/MS. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento / Ministério da Saúde, Brasília. 2p.

Brasil. 2017. Portal da Saúde SUS (Sinan/SVS/MS). Ministério da Saúde, Brasília.  
Disponível: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sinannet/cnv/leishvbr.def>> Acesso em 18 out. 2017.

Cerbino Neto J., Werneck G.L. & Costa CHN. 2009. Factors associated with the incidence of urban visceral leishmaniasis: an ecological study in Teresina, Piauí state, Brazil. *Cad. Saúde Pública*. 7(25): 1543-1551.

Cesse E.A.P., de Carvalho E.F., Andrade P.P., Ramalho W.M., Luna L. 2001. Organização do espaço urbano e expansão do calazar. *Rev. Bras. Saúde Matern. Infant*. 1(2):167-176.

Coura-Vital W., Marques M.J., Veloso V.M., Roatt B.M., Aguiar-Soares R.D., Reis L.E., Braga S.L., Morais M.H., Reis A.B. & Carneiro M. 2011. Prevalence and factors associated with *Leishmania infantum* infection of dogs from an urban area of Brazil as identified by molecular methods. *PLoS Negl. Trop. Dis*. 5: e1291.

Costa C.H.N. 2008. Characterization and speculations on the urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. *Cad. Saúde Pública*. 24(12):2959-2963.

Dantas-Torres, F. 2009. Canine leishmaniosis in South America. *Parasit. Vectors*. 2(1): 1-8.

De Araújo V.E.M., Pinheiro L.C., Almeida M.C.M., Menezes F.C., Morais M.H.F., Reis I.A., Assunção R.M. & Carneiro M. 2013 Relative risk of visceral leishmaniasis in Brazil: a spatial analysis in urban area. *PLoS Negl. Trop. Dis*. 7:e2540.

De Nardo C.D.D., Rossi C.N., Laurenti, M.D. & Marcondes, M. 2011. Detecção de anticorpos anti-*Leishmania infantum syn chagasi* em cães de São José do Rio Preto, São Paulo. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci*. 48 (5): 425-428.

Dias F.O.P., Lorosa E.S. & Rebêlo J.M.M. 2003. Fonte alimentar sanguínea e a peridomiciliação de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Psychodidae, Phlebotominae). Cad. Saúde Pública. 19( 5): 1373-1380.

Fernandes A.R.F., Pimenta C.L.R.M., Vidal I.F., Oliveira G.C., Sartori R.S., Araujo R.B., Melo M.A., Langoni H. & Azevedo S.S. 2016. Risk factors associated with seropositivity for *Leishmania* spp. and *Trypanosoma cruzi* in dogs in the state of Paraíba, Brazil. Ver. Bras. Parasitol. Vet. 25(1): 90-98.

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. 2003. Epidemiology of canine visceral leishmaniasis in the endemic área of Montes Claros Municipality, Minas Gerais state, Brazil. Vet. Parasitol. 111:161-173.

Guimarães A., Raimundo J.M., Santos H.D., Machado R.Z. & Baldani C.D. 2017. Serosurvey for canine visceral leishmaniasis in rural and urban areas of the Brazilian Legal Amazon. Braz. J. Infect. Dis. 21(2): 207-208.

Hosmer D.W. & Lemeshow W.S. 2000. Applied Logistic Regression. 2<sup>nd</sup> ed. John Wiley and Sons, New York, 375p. Disponível em  
<[http://books.google.com.br/books?id=Po0RLQ7USIMC&printsec=frontcover&hl=pt-BR&source=gbg\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](http://books.google.com.br/books?id=Po0RLQ7USIMC&printsec=frontcover&hl=pt-BR&source=gbg_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)> Acesso em out. 2015.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2010. IBGE Cidades. Disponível em  
<<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pb/santa-luzia/panorama>> Acesso em 20 out. 2017.

Lainson R. & Rangel E. 2005. *Lutzomyia longipalpis* and the ecoepidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil – A review. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 100: 811-827.

Maziero N., Thomaz-Soccol V., Steindel M., Link J.S., Rossini D., Alban S.M. & Nascimento A.J. 2014. Rural–urban focus of canine visceral leishmaniosis in the far western region of Santa Catarina State, Brazil. Vet. Parasitol. 205(1): 92-95.

Morrison A.C., Ferro C. & Tesh R.B. 1993. Hostpreferences of the sand fly *Lutzomyia longipalpis* at an endemic focus of American visceral leishmaniasis in Colombia. Am. J. Trop. Med. Hyg. 49: 68–75.

Oliveira C.L., Morais M.H.F. & Machado-Coelho G.L.L. 2008 Visceral leishmaniasis in large Brazilian cities: challenges for control. Cad Saúde Pública. 24:2953–2958.

Pimentel D.S., Ramos R.A., Santana M.A., Maia C.S., de Carvalho G.A., da Silva H.P. & Alves L.C. 2015. Prevalence of zoonotic visceral leishmaniasis in dogs in an endemic area of Brazil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 48(4):491-493.

Rondon, F.C.M., Bevilaqua C.M., Franke C.R., Barros R.S., Oliveira F.R., Alcântara A.C. & Diniz A.T. 2008. Cross-sectional serological study of canine *Leishmania* infection in Fortaleza, Ceará state, Brazil. Vet. Parasitol. 155(1-2): 24-31.

Salomón O.D., Feliciangeli M.D., Quintana M.G., Afonso M.M. & Rangel E.F. 2015. *Lutzomyia longipalpis* urbanisation and control. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 110(7): 831-46.

Silva R.B.S., Mendes R.S., Santana V.L., Souza H.C., Ramos C.P.S., Souza A.P., Andrade P.P. & Melo MA. 2016. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral canina na zona rural do semiárido paraibano e análise de técnicas de diagnóstico. Pesq. Vet. Bras. 36(7): 625-629.

Teixeira-Neto R.G., da Silva E.S., Nascimento R.A., Belo V.S., de Oliveira C.L., Pinheiro L.C. & Gontijo C.M. 2014. Canine visceral leishmaniasis in an urban setting of Southeastern Brazil: an ecological study involving spatial analysis. Parasit. Vectors. 7:485.

Teles A.P.S., Herrera H.M., Ayres F.M., Brazuna J.C.M. & de Abreu U.G.P. 2015. Fatores de risco associados à ocorrência da leishmaniose visceral na área urbana do município de Campo Grande/MS. Hygeia. 11(21): 35-48.

Thrusfield M. 2007. Veterinary Epidemiology. Wiley Blackwell, Oxford. 610p.

Troncarelli M.Z., Carneiro D.M.V.F. & Langoni H. 2012. Visceral Leishmaniosis: An Old Disease with Continuous Impact on Public Health. In: Lorenzo-Morales J. Zoonosis. InTech. p. 263-282. Disponível em <  
<https://www.intechopen.com/books/zoonosis/visceral-leishmaniasis-an-old-zoonosis-with-continuous-impact-on-public-health>> Acesso em 20 out. 2017

WHO. 2002. Urbanization: an increasing risk factor for leishmaniasis. Weekly epidemiological record. 2002; 44(77):365–370. Disponível em  
 <<http://www.who.int/wer>> Acesso em 20 out. 2017

WHO. 2017a. Leishmaniasis. World Health Organization, Geneva.  
 <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>> Acesso em 20 out. 2017.

WHO. 2017b. Global leishmaniasis update, 2006–2015: a turning point in leishmaniasis surveillance. Weekly Epidemiological Record, 38: 557-565. Disponível em  
 <<http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/258974/1/WER9238-557-565.pdf>>  
 Acesso em 20 out. 2017

Zar J.H. 1999. Biostatistical Analysis. 4th ed. Prentice-Hall, New Jersey. 663p.

## **4 CAPÍTULO II**

### **ANÁLISE ESPACIAL DA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA EM UMA ÁREA DE TRANSMISSÃO DO SEMIÁRIDO PARAÍBANO**

“Spatial analysis of canine visceral leishmaniasis in a transmission area of Paraíba semiarid”

Raizza Barros Sousa Silva, Diana Azevedo Lima, Laysa Freire Franco e Silva, Angélica  
Beatriz Araújo de Andrade Freitas, Walter Massa Ramalho, Marcia Almeida Melo

Trabalho a ser submetido à Revista  
Brasileira de Parasitologia Veterinária,  
Jaboticabal – SP. Qualis A2 – SJR 0,56.

## **Análise espacial da leishmaniose visceral canina em uma área de transmissão do semiárido paraibano**

Raizza Barros Sousa Silva<sup>1\*</sup>, Laysa Freire Franco e Silva<sup>1</sup>, Diana Azevedo Lima<sup>2</sup>, Angélica Beatriz Araújo de Andrade Freitas<sup>2</sup>, Walter Massa Ramalho<sup>3</sup>, Marcia Almeida Melo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-graduação em Ciência e Saúde Animal, Universidade Federal de Campina Grande– UFCG, Patos, Paraíba, Brasil. \* Autor para correspondência: Av. Universitária s/n, Bairro Santa Cecília, CEP 58708-110, Patos, PB, Brasil. +55 83 996600699. e-mail: raizzabss@hotmail.com

<sup>2</sup> Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Patos, Paraíba, Brasil.

<sup>3</sup> Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília – UNB, Brasília, Distrito Federal, Brasil.

### **Abstract**

Canine infection is an important risk indicator for the occurrence of human visceral leishmaniasis (VL). The objective of this study was to map the canine VL distribution and to detect spatial clusters in order to identify areas of risk for VL in the municipality of Santa Luzia, state of Paraíba. For this, the diagnosis was made by serology (ELISA-S7® Kit, DPP® Rapid Test and EIE-LVC® Kit), and samples that reacted in at least two tests were considered positive. The dogs' home location was performed by the Global Positioning System (GPS) or by address search, which was used for georeferencing and spatial analysis. It was observed that most cases of the urban area were concentrated in a peripheral neighborhood, Frei Damião, which confirmed a high risk cluster for the occurrence of the disease ( $p = 0.02$ ;  $RR = 2.48$ ). No statistically significant cluster was observed in rural areas. Canine VL is widely distributed in the city of Santa Luzia, but heterogeneously. From this study, control and prevention measures can be prioritized based on the identified risk areas in order to maximize program efficiency and minimize the chance of new canine and human cases.

**Keywords:** Epidemiology, Geographic Information Systems, *Leishmania infantum*, one health, zoonosis.

### **Resumo**

A infecção canina é um importante indicativo de risco para a ocorrência da leishmaniose visceral (LV) humana, objetivou-se mapear a distribuição LV canina e detectar

agrupamentos espaciais, a fim de identificar as áreas de risco para a LV no município de Santa Luzia, estado da Paraíba. Para tal, o diagnóstico foi realizado por sorologia (Kit ELISA-S7®, teste rápido DPP® e Kit EIE-LVC®), sendo consideradas positivas as amostras que reagissem em, pelo menos, dois testes. A localização da residência dos cães foi realizada pelo Sistema de Posicionamento Global (GPS) ou através da busca do endereço, que foi usada para realização do georreferenciamento e análise espacial. Pôde-se observar que a maioria dos casos da zona urbana estava concentrada em um bairro periférico, Frei Damião, onde se confirmou um *cluster* de alto risco para ocorrência da doença ( $p = 0,02$ ;  $RR = 2,48$ ). Não se observou nenhum *cluster* estatisticamente significativo na zona rural. A LV canina está amplamente distribuída no município de Santa Luzia, porém de forma heterogênea. A partir desse estudo, medidas de controle e prevenção podem ser priorizadas com base nas áreas de risco identificadas, a fim de maximizar a eficiência do programa e minimizar a chance de ocorrer novos casos caninos e humanos.

**Palavras-chave:** Epidemiologia, *Leishmania infantum*, saúde única, Sistemas de Informação Geográfica, zoonose.

## Introdução

A leishmaniose visceral (LV) é uma zoonose causada pelo protozoário *Leishmania infantum* que acomete humanos, canídeos e outros mamíferos. A doença é transmitida por vetores flebotômíneos e, no Brasil, o principal transmissor é a espécie *Lutzomyia longipalpis* (MONTEIRO et al., 2005; BRASIL, 2014; WHO, 2017).

A LV tem ampla distribuição mundial e é endêmica em muitos países das Américas, onde, em 2016, a taxa de mortalidade atingiu 7,90%, a mais alta taxa em comparação com outros continentes. No continente americano, 96,00% dos casos de LV ocorrem no Brasil, principalmente na Região Nordeste (BRASIL, 2014; PAHO, 2018).

Apesar do emprego das estratégias de controle preconizadas pelo Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (BRASIL, 2014), a prevalência da infecção, tanto em cães como em humanos, não reduziu e a doença continua em expansão no Brasil. O insucesso das medidas de controle pode ser atribuído à dificuldade e ineficácia da eliminação do hospedeiro reservatório canino, às insuficientes ações de controle vetorial, à adaptabilidade do vetor e aos altos custos envolvidos na realização de tais medidas (OLIVEIRA et al., 2008; WERNECK, 2014; MACHADO et al., 2016).

Para aumentar a efetividade das estratégias de controle, o Ministério da Saúde recomenda que as ações sejam distintas para cada situação epidemiológica e que as áreas com



situação epidemiológica mais grave sejam priorizadas (BRASIL, 2014). Diante do papel que o ambiente desempenha na transmissão e dispersão da LV, é extremamente relevante a compreensão da dinâmica da doença em uma região e a escolha das medidas de controle devem ser baseadas nos parâmetros epidemiológicos observados no local (MARCONDES & ROSSI, 2013; WERNECK, 2014; D'ANDREA & GUIMARÃES, 2018).

Nesse sentido, ferramentas de análise espacial podem auxiliar nas pesquisas epidemiológicas, pois possibilitam o mapeamento das áreas onde os casos ocorrem, caracterizando e quantificando os agravos à saúde, e permitem um maior reconhecimento da realidade local, apontando os problemas do território (BRASIL, 2006; PAVARINI et al., 2008; RIBEIRO et al., 2014). Esse tipo de análise fornece informações que contribuem não só para o conhecimento epidemiológico, mas também para a melhoria das abordagens integrativas de controle, facilitando a tomada de decisões e colaborando para uma gestão mais eficaz dos recursos públicos (BARBOSA et al., 2014; LAMATTINA et al., 2019).

Tendo em vista a constatação de sobreposição espacial entre casos caninos e humanos (URSINE et al., 2016), sendo a infecção canina um importante indicativo de risco para a ocorrência da LV humana (FAYE et al., 2011), o estudo das características da infecção canina pode apontar ações necessárias ao controle da endemia às agências e aos órgãos de vigilância locais. Diante disso, os objetivos dessa pesquisa foram mapear a distribuição da LV canina e detectar agrupamentos espaciais, a fim de identificar as áreas de risco para a LV no município de Santa Luzia, Paraíba.

## **Material e métodos**

### *Considerações éticas*

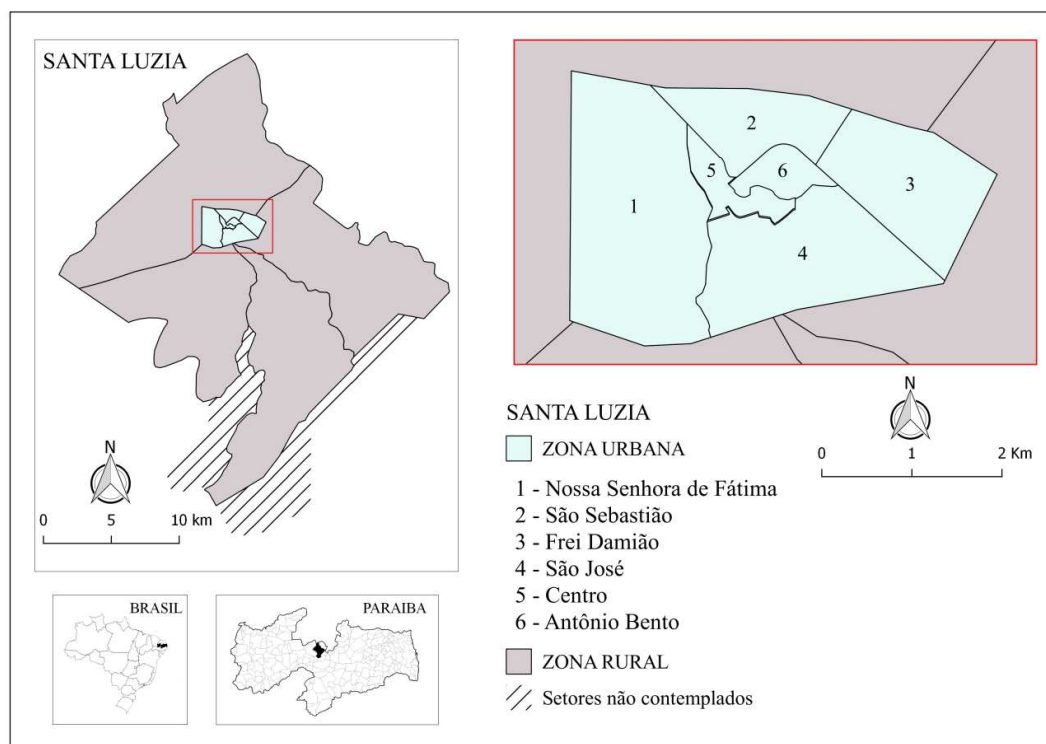
O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), sob o protocolo 283/2015.

### *Área do estudo*

O estudo foi realizado nas zonas urbana e rural de Santa Luzia (06°52'S e 36°56'O), semiárido brasileiro, localizado nas regiões geográficas imediata e intermediária de Patos (IBGE, 2017).

A zona urbana é composta por seis bairros e a zona rural, por sete setores censitários (Figura 1). Apenas três setores da zona rural não foram contemplados no estudo, pois ficavam longe da sede do município, em uma área de difícil acesso e pouco habitada, conhecida como Serra de Santa Luzia.

Caracteriza-se por apresentar grande irregularidade no seu regime pluviométrico, com médias anuais em torno de 550 mm, e chuvas concentradas nos meses de janeiro a abril. Os registros de temperatura exprimem valores que oscilam entre 20°C a 34°C, com uma média anual de 25°C. Possui uma área de 455 km<sup>2</sup> e uma população de 15.341 habitantes, segundo estimativa do IBGE para o ano de 2016.



**Figura 1.** Localização geográfica do município de Santa Luzia, Paraíba, Brasil. Destaque para a zona urbana (retângulo vermelho) e os seus bairros.

### *Número amostral*

Considerando a existência de um cão para cada sete habitantes, a população canina estimada foi de 2.191. O número de animais a serem utilizados foi determinado pela fórmula para amostras aleatórias simples, proposta por Thrusfield (2007), considerando uma prevalência esperada de 50%, nível de confiança de 99% e erro amostral de 4%, que resultou em um número mínimo de 706 cães a serem utilizados.

### *Coleta amostral*

As coletas foram realizadas entre julho de 2015 e julho de 2016. Foram incluídos no estudo cães acima de seis meses e sem distinção de raça ou sexo. A amostragem na zona urbana foi realizada por conveniência: foram montados pontos de coletas, um em cada bairro.

Na zona rural, a amostragem foi por conglomerados, a coleta foi realizada em 16 comunidades pré-selecionados por sorteio, sendo contempladas todas as casas e todos os cães das localidades sorteadas.

O sangue foi obtido por venopunção jugular ou cefálica, com o auxílio de seringa de 5mL e agulha 25X8mm, estéreis e de uso individual. Um total de 5 mL de sangue foi depositado, de imediato, em tubo contendo citrato de sódio a 4%. Após a coleta, o material foi encaminhado ao Laboratório de Biologia Molecular do Semiárido (BiolMol/UFCG), campus Patos-PB. As amostras foram centrifugadas a 2000 rpm durante 5 minutos para separação do plasma, que foi armazenado em microtubos de 1,5 mL, identificados e estocados a -20°C até a realização dos ensaios sorológicos.

### *Sorologia*

Os testes sorológicos utilizados para o diagnóstico da LVC foram: Kit ELISA-S7® (Biogene), realizado pela equipe do BiolMol/UFCG; teste rápido DPP® (Bio-Manguinhos), realizado pelos membros capacitados da Secretaria de Saúde de Santa Luzia; e o ensaio imunoenzimático (Kit EIE-LVC®, Bio-Manguinhos), realizado pelo Laboratório Central de Saúde Pública da Paraíba (LACEN), apenas nas amostras que reagiram no DPP®. Todos os ensaios foram realizados seguindo o protocolo dos fabricantes. Para determinar a prevalência da LVC, foram consideradas positivas as amostras que reagiram em, pelo menos, dois ensaios.

### *Georreferenciamento e análise espacial*

Os pontos das residências dos cães foram georreferenciados por meio do Sistema de Posicionamento Global (GPS Gramin® eTrex 30) e distribuídos geograficamente com auxílio do programa Google Earth 5.0.

A representação espacial dos casos de LVC e sua análise estatística foram realizadas nos softwares QGIS 2.18.22 e SaTScan 9.4. Os dados georreferenciados foram inseridos na base cartográfica digitalizada do município, obtida no site do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (Portal de Mapas, IBGE), usando o sistema de coordenadas SIRGAS 2000 (Sistema de Referência Geocêntrico para as Américas).

Confeccionou-se um mapa temático do município, detalhando os setores censitários (zona rural) e bairros (zona urbana), com base na taxa de prevalência. Realizou-se também a análise estatística de estimação de curvas de densidades, por meio do mapa de Kernel, através da função quártica. Posteriormente, para a verificação das áreas em que a LVC se encontrava

acima do esperado, foi utilizada a estatística de varredura espacial para detecção de *clusters* (aglomerados) utilizando o modelo de Bernoulli. Os aglomerados foram gerados em duas etapas, de acordo com o tamanho do *cluster* de alto risco, um considerando até 50% da população em risco e outro com um raio de até 300 metros, considerando o alcance de voo dos flebótomos (TRONCARELLI et al., 2012).

## Resultados

De um total de 779 amostras coletadas, houve a perda de 3,85% referente a erros na coleta dos endereços ou das coordenadas, e 749 puderam ser georreferenciadas e foram consideradas para os cálculos estatísticos. Dessas, 649 eram da zona urbana e 100 da rural. Após a realização das sorologias, observou-se uma considerável prevalência da leishmaniose visceral canina: 15,49% (116/749; IC 95%: 12,90 – 18,08) dos cães apresentaram anticorpos anti-*Leishmania infantum*, sem diferença significativa entre as prevalências na zona urbana (15,87%; IC 95%: 13,06 – 18,68) e rural (13,00%; IC 95%: 6,41 – 19,59).

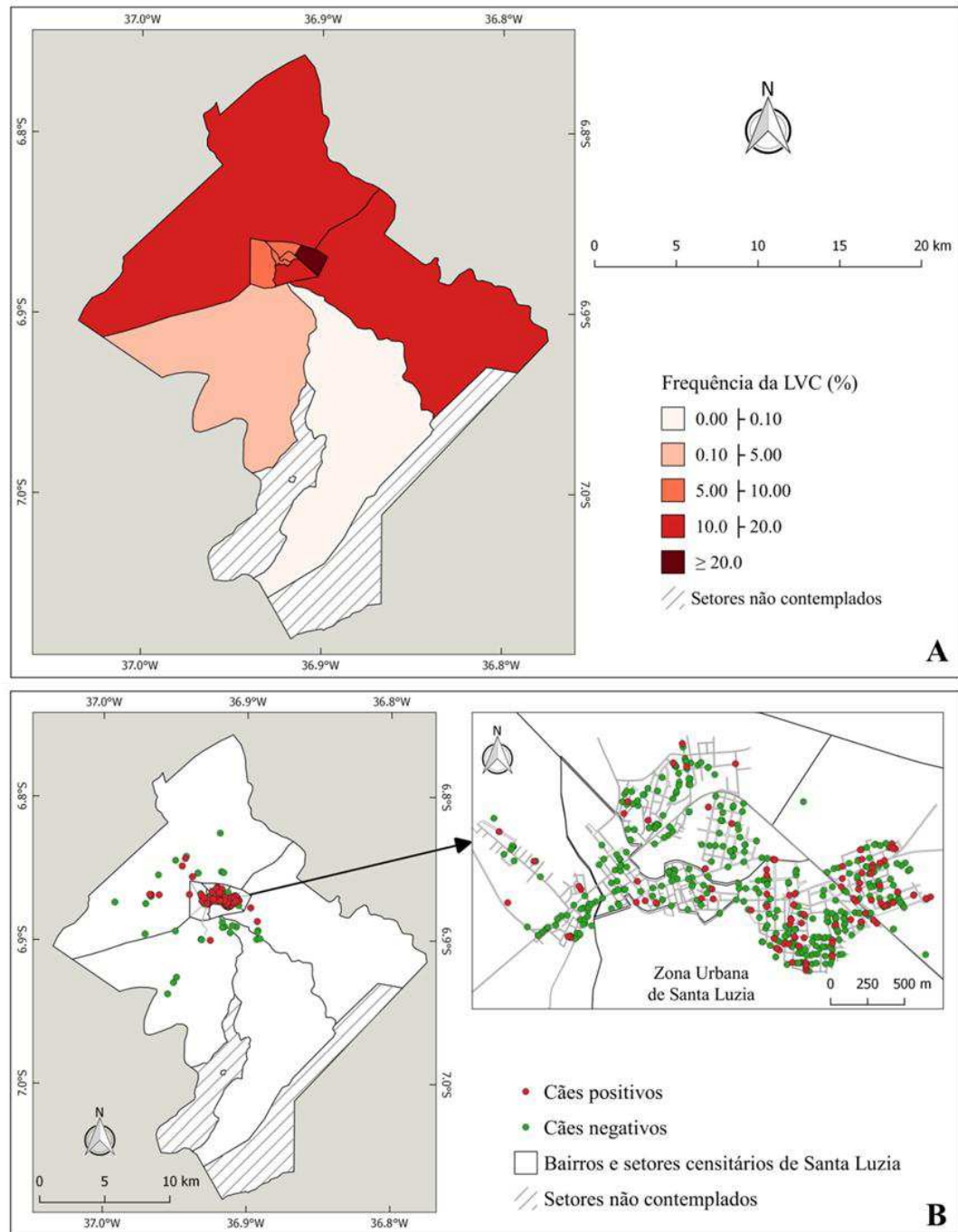
A LVC se apresentou amplamente distribuída no município de Santa Luzia (Tabela 1 e Figura 2). Pode-se observar na tabela 1, que houve casos em todos os bairros zona urbana, porém o que apresentou a maior prevalência foi o Frei Damião com 26,23% (32/122), seguido do bairro São José, 18,55% (41/221). Nos bairros Centro, Nossa Senhora de Fátima, Antônio Bento e São Sebastião, a frequência foi bem semelhante, variando entre 9,72 a 9,89%.

**Tabela 1.** Discriminação da prevalência da leishmaniose visceral canina por localidade do município de Santa Luzia, Paraíba, entre 2015 e 2016.

ZONA	IDENTIFICAÇÃO (SETOR/BAIRRO)	Nº DE POSITIVOS	TOTAL COLETADO	PREVALÊNCIA (%)
URBANO	Centro	7	72	9,72
	Nossa Senhora de Fátima	8	82	9,76
	Antônio Bento	6	61	9,84
	São Sebastiao	9	91	9,89
	São Jose	41	221	18,55
	Frei Damião	32	122	26,23
RURAL	Sul	0	11	0,00
	Sudoeste	1	25	4,00
	Nordeste	2	12	16,67
	Noroeste	10	52	19,23

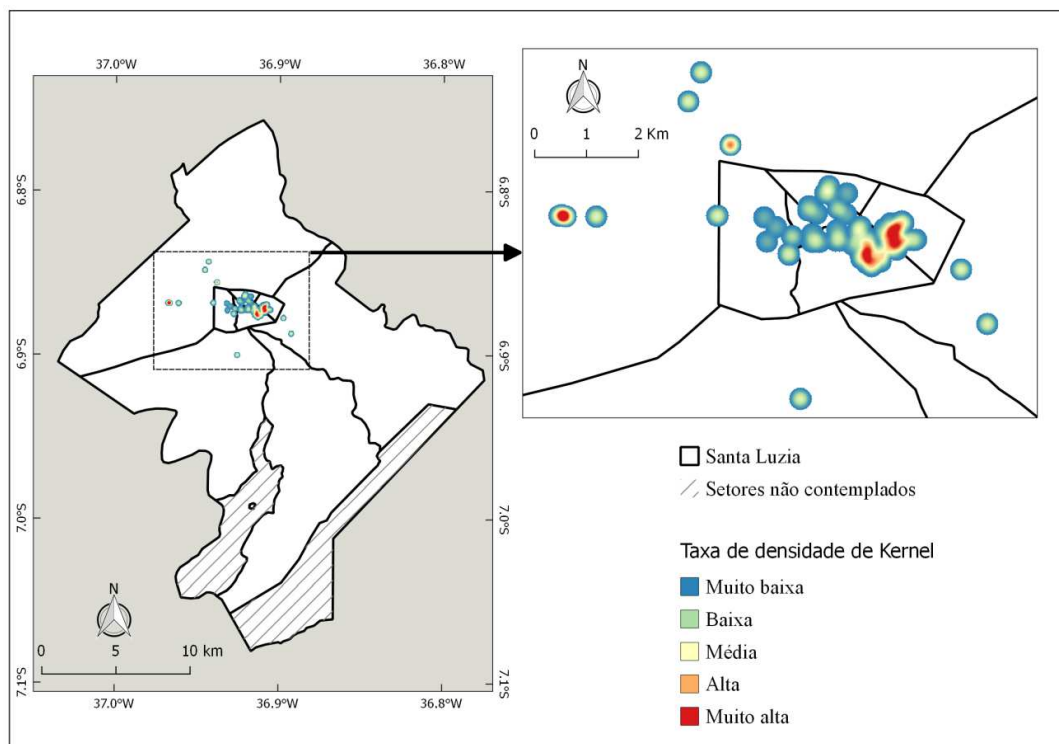
Na zona rural, apenas um setor censitário não apresentou nenhum caso de LVC e a frequência nos demais setores variou entre 4,00%, no setor censitário rural a sudoeste, e 19,23%, setor censitário rural a noroeste (Figura 2A). Apesar da LVC está vastamente

distribuída no município, o mapeamento dos casos da doença reflete heterogeneidade, ou seja, os casos não são difundidos uniformemente, sendo fortemente agrupados em alguns setores, como o que acontece no setor censitário rural a noroeste e nordeste, e nos bairros Frei Damião e São José (Figura 2.B).



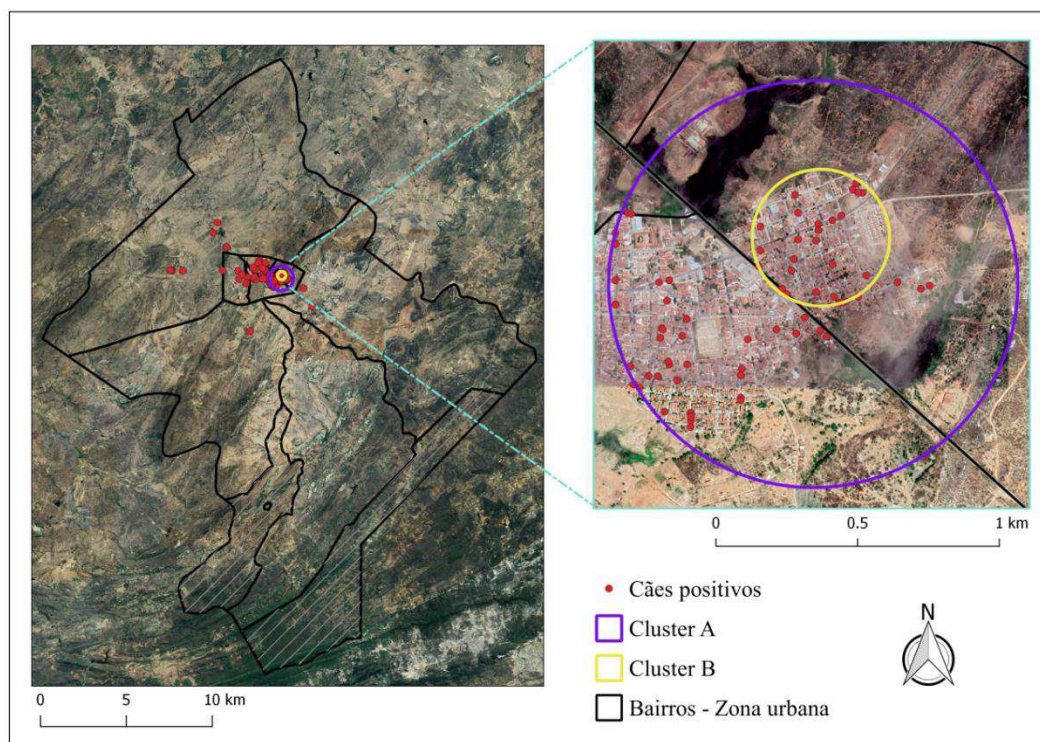
**Figura 2.** A. Frequência da leishmaniose visceral canina (LVC) por bairros (zona urbana) e por setor censitário (zona rural). B. Georreferenciamento dos imóveis de acordo com o resultado sorológico para LVC em Santa Luzia, Paraíba, Brasil, entre 2015 e 2016 (com detalhe aproximado da zona urbana).

Essa heterogeneidade pôde ser comprovada estatisticamente através do mapa de Kernel (Figura 3) e pela varredura puramente espacial utilizando o modelo de Bernoulli (Figura 4). No mapa de Kernel é possível examinar a variação nos padrões de pontos espaciais, estimando a densidade dos casos de LVC em uma escala variando de muito alta a muito baixa; e, assim, foram identificadas algumas áreas de densidade muito alta, tanto na zona urbana como na rural.



**Figura 3.** Mapa de densidade de Kernel da leishmaniose visceral canina no município de Santa Luzia, Paraíba, Brasil (2015-2016).

Na figura 4, observa-se um *cluster* (A – roxo) de risco para LVC na zona urbana de Santa Luzia, que abrange, mais especificamente, o bairro Frei Damião e parte do São José, a mesma área urbana que apresentou uma densidade muito alta pela estimativa de Kernel. Quando, para determinar o tamanho do aglomerado, foi levado em consideração o alcance de voo do vetor (raio de até 300m), o *cluster* (B – amarelo) ficou localizado apenas no bairro Frei Damião, no limite com o São José.



**Figura 4.** Aglomerados espaciais (*clusters*) de alta prevalência de leishmaniose visceral canina, detectados pela estatística de varredura espacial, segundo o modelo de Bernoulli, no município de Santa Luzia, Paraíba, Brasil (2015-2016). Imagem de satélite: Landsat / Copernicus; Google Satellite; Map data © 2015 Google.

A medida de associação utilizada no cálculo dos aglomerados foi o risco relativo, sendo observado um risco de infecção canina de até 2,62 vezes maior em relação às outras áreas do município (*cluster A*). O risco relativo e os detalhes dos resultados da análise espacial estão descritos na tabela 2.

**Tabela 2.** Agrupamento geográfico (*cluster*) da leishmaniose visceral canina em Santa Luzia, Paraíba, Brasil (2015-2016).

Cluster	Centroide		Raio (m)	Nº de casos observados	Nº de casos esperados	Risco Relativo	Valor de p
	Latitude	Longitude					
A	-6.872330	-36.909369	720	74	50,85	2.62	0,001
B	-6.870853	-36.909129	242	29	14,05	2,48	0,02



## Discussão

O presente trabalho resultou do primeiro inquérito sorológico que compreendeu a população canina de todo o município e através do qual foi possível conhecer a distribuição geográfica da LVC em Santa Luzia, evidenciando maior ocorrência dos casos na área urbana. No Brasil, até a década de 1970, a LV tinha um padrão estritamente rural, contudo, a partir da década seguinte a urbanização começou a ser observada (CERBINO NETO et al., 2009).

Inicialmente, a migração das pessoas com seus animais de estimação da zona rural para a urbana foi incriminada como principal responsável pelo processo de urbanização. Porém, com o avanço dos estudos, observou-se que a forma de ocupação do espaço, em particular as transformações ambientais (desmatamento e mudanças climáticas), sociais (ocupação desordenada e serviços urbanos deficitários) e econômicas (condições de vida precárias), era mais determinante; sempre associada à grande capacidade de adaptação do vetor (WHO, 2002; COSTA et al., 2005).

A variação da prevalência da LVC é enorme entre cidades e estados brasileiros, com valores de, por exemplo, 0,70% em Salvador, na Bahia (BARBOZA et al., 2009), e 75,30% em Anastácio, Mato Grosso do Sul (CORTADA et al., 2004). Essa variação pode estar associada a diversos fatores, como a região, a população e o teste diagnóstico utilizado.

Entre as diferentes localidades de um município essa variação também é observada, o que sugere que os diversos ecossistemas favorecem a manutenção dos vetores de formas distintas, causando uma heterogeneidade na sua distribuição (FRANÇA-SILVA et al., 2003; SILVA et al., 2016). Foi o que pôde ser observado em Santa Luzia, onde a prevalência da LVC oscilou bastante nos diversos setores (0 a 26,20%), mas, considerando o município como um todo, a prevalência global foi de 15,50%.

Resultados semelhantes foram observados em Ipatinga, Minas Gerais (14,80%) (LANA et al., 2018) e em Petrolina, Pernambuco (19,00%) (PIMENTEL et al., 2015). Já na capital paraibana, João Pessoa, a soroprevalência da LVC foi bem inferior, 5,90% (FERNANDES et al., 2016). E no interior da Paraíba, a soroprevalência foi de 20,00% em Cajazeiras, 16,30% em Uiraúna e 10,50% em Sousa (SILVA et al., 2018). Patos, um município paraibano a 44 km de Santa Luzia, tem um comportamento semelhante, apresentando prevalência de LVC de 18,40% na zona urbana (FERNANDES et al., 2016) e 11,33% na zona rural (SILVA et al., 2016).

O bairro Frei Damião se comportou como uma área de elevada densidade de casos e de alto risco para LVC, assim como parte do São José. Os cães desses bairros possuem 2,62 vezes mais chances de se infectarem do que os cães do restante do município. Esses são



bairros periféricos que crescem de forma desordenada, apresentando áreas com precária infraestrutura higiênico-sanitária e com remanescentes de caatinga. Tais áreas sofrem desmatamento para ocupação por população de baixa renda, tornando o local favorável para o contato de reservatórios silvestres e do vetor com as pessoas e com os cães. Aversi-Ferreira et al. (2014) e Cerbino Neto et al. (2009) correlacionaram esse cenário de desmatamento associado à urbanização não planejada com as maiores frequências de leishmaniose visceral, geralmente em bairros localizados nas áreas periféricas da cidade, que estão sofrendo expansão, ou seja, apresentam área de transição rural/urbana (periurbano).

Os bairros Nossa Senhora de Fátima e São Sebastião apresentaram prevalência bem inferior ao Frei Damião e ao São José, mesmo possuindo semelhante perfil socioambiental, tais como: áreas de ocupação relativamente recente, periféricos, com pouca infraestrutura, apresentando remanescente de caatinga, e cuja população é caracterizada pela baixa renda. Acredita-se que seja influencia da ação da prefeitura, no primeiro semestre de 2015, após o primeiro caso de LV humana autóctone na zona urbana de Santa Luzia, que resultou no óbito de uma criança residente no bairro São Sebastião.

A prefeitura interviu com atividades próximas ao caso humano baseadas no PVCLV: borrifação de inseticida, sorologia dos cães próximos e eutanásia dos positivos. Essas ações de controle ocorreram no mesmo ano da presente pesquisa, e abrangeram, além do São Sebastião, o bairro Nossa Senhora de Fátima.

As periferias das cidades foram apontadas como áreas de maior concentração da LV em diversos trabalhos no Brasil (CARVALHO et al., 2018; WHO, 2010) e no exterior (KESARI et al., 2011; BHUNIA et al., 2013). Rangel e Vilela (2008) relatam que os vetores encontram condições de se multiplicar e se adaptam facilmente ao ambiente peridoméstico, particularmente em bairros pobres localizados na periferia das cidades, explorando o acúmulo de matéria orgânica gerada por animais domésticos e o saneamento inadequado. Já Ursine et al. (2016) observaram que as regiões centrais de Araçuaí, Minas Gerais, concentravam o maior número de casos humanos e caninos, porém eram, na sua maioria, locais com deficiências na infraestrutura de saneamento e populações em más condições de vida, com grande quantidade de animais e material orgânico.

Santa Luzia não tem grandes diferenças intraurbanas, mas, acredita-se que mesmo pequenas diferenças podem afetar a ocorrência da infecção, pois o Centro e o Antônio Bento são bairros que apresentam as melhores condições de infraestrutura, saneamento e condições socioeconômicas e estão entre os que apresentaram as menores frequências de LVC.

Pelo mapa de Kernel, observa-se que a maior densidade de casos de LVC na zona rural de Santa Luzia ocorreu no setor censitário a noroeste. Uma comunidade apresentava espelhos de água e vegetação densa com a presença de árvores e arbustos, o que favorece o acúmulo de matéria orgânica e, conseqüentemente, reprodução e manutenção do vetor (SILVA et al., 2005; NIETO et al., 2006). E a outra apresentava galpões de criação de galináceos, espécies que podem atuar no ciclo do patógeno atraindo o vetor por meio de suas excretas ou ainda como fonte de alimento (BORGES, 2011).

O setor da zona rural, a sudeste, não teve nenhum caso de LVC. Uma hipótese é que essa seja a área mais desmatada dentre os setores censitários, o que desfavorece a interação entre os ciclos silvestre e peridomiciliar da doença, dificultando a manutenção de populações de flebotomíneos e a propagação da LV (LAINSON & RANGEL, 2005).

Segundo Aversi-Ferreira et al. (2014), estudos de georreferenciamento são fundamentais para as estratégias de combate à leishmaniose, pois apontam as áreas que necessitam de ações prioritárias de controle e aquelas que são risco para o surgimento de novos casos de LVC, resultando em esforços direcionados de controle local. Do ponto de vista da saúde pública, a alta densidade de casos de LVC encontrada em Santa Luzia é preocupante. Segundo De Araújo et al. (2013) e Lima et al. (2018), em estudos realizados em Minas Gerais e Rio Grande do Norte, respectivamente, a densidade da população de cães infectados está diretamente correlacionada (correlação linear positiva) com o risco relativo de contrair LV humana. Logo, esse estudo é útil para prevenir novos casos também nessa população.

As medidas de prevenção e controle devem ser focadas no contexto da “Saúde Única”, ou seja, programas integrados que, além de focar no controle dos vetores e reservatórios, pensem na melhoria da infraestrutura, na gestão ambiental, e, principalmente, na educação em saúde. Tendo em vista que a educação em saúde, desde a população até a comunidade política, é o item central para a prevenção e controle de qualquer doença (WHO, 2010). Entretanto, o que tem ocorrido é que as ações contra a leishmaniose visceral só acontecem quando ocorre um caso humano e apenas em torno desse caso, em suma, deixa-se adoecer para se tomar alguma atitude; medidas desse tipo não podem ser classificadas como “Programa de Vigilância e Controle”.

## **Conclusão**

A leishmaniose visceral canina está amplamente distribuída no município de Santa Luzia, porém de forma heterogênea. Isto é, as áreas identificadas com intensa prevalência e

maior risco devem ser priorizadas, a fim de maximizar a eficiência do programa e minimizar a chance de ocorrer novos casos caninos e humanos.

## Referências

Aversi-Ferreira RAGMF, Galvão JD, da Silva SF, Cavalcante GF, da Silva EV, Bhatia-Dey N, et al. Geographical and environmental variables of leishmaniasis transmission. In: Claborn DM. *Leishmaniasis - Trends in epidemiology, diagnosis and treatment*. London: InTech. 2014 [cited 2017 Out 20] Available from: <https://www.intechopen.com/books/leishmaniasis-trends-in-epidemiology-diagnosis-and-treatment/geographical-and-environmental-variables-of-leishmaniasis-transmission>.

Barbosa DS, Belo VS, Rangel MES, Werneck GL. Spatial Analysis for identification of priority áreas for surveillance and control in a visceral leishmaniasis endemic área in Brazil. *Acta Tropica* 2014; 131: 56-62.

Barboza DCPM, Leal DC, Souza BMPS, Carneiro AJB, Gomes Neto CMB, Alcântara ACD, et al. Inquérito epidemiológico da leishmaniose visceral canina em três distritos sanitários do Município de Salvador, Bahia, Brasil. *Rev Bras Saúde Prod Anim* 2009; 10(2): 434-447.

Bhunja GS, Kesari S, Chatterjee N, Kumar V, Das P. Spatial and temporal variation and hotspot detection of kala-azar disease in Vaishali district (Bihar), India. *BMC Infect Dis* 2013; 13(64): 1-12.

Borges, LFNM. *Prevalência e fatores de risco para leishmaniose visceral canina distribuição de Juatuba, Minas Gerais, 2010*. [Dissertação]. Minas Gerais: Universidade Federal de Minas Gerais; 2011.

Brasil. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Fundação Oswaldo Cruz. *Abordagens espaciais na Saúde Pública: Capacitação e atualização em geoprocessamento em saúde*. Brasília: Ministério da Saúde; 2006.

Brasil. Ministério da Saúde. *Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral*. Brasília: Ministério da Saúde; 2014.

- Carvalho AG, Luz JGG, Rodrigues LD, Dias JVL, Fontes CJF. High seroprevalence and peripheral spatial distribution of visceral leishmaniasis among domestic dogs in an emerging urban focus in Central Brazil: a cross-sectional study. *Pathog Glob Health* 2018; 112(1): 29-36.
- Cerbino Neto J, Werneck GL, Costa CHN. Factors associated with the incidence of urban visceral leishmaniasis: an ecological study in Teresina, Piauí state, Brazil. *Cad Saúde Pública* 2009; 7(25): 1543-1551.
- Cortada VM, Doval ME, Souza Lima MA, Oshiro ET, Meneses CR, Abreu-Silva AL, et al. Canine visceral leishmaniosis in Anastácio, Mato Grosso do Sul state, Brazil. *Vet Res Commun* 2004; 28(5): 365-374.
- Costa CH, Werneck GL, Rodrigues LJ, Santos MV, Araújo IB, Moura LS, et al. Household structure and urban services: neglected targets in the control of visceral leishmaniasis. *Ann Trop Med Parasitol* 2005; 99(3): 229-236.
- D'Andrea LAZ, Guimarães RB. A importância da análise de distribuição espacial da leishmaniose visceral humana e canina para as ações de vigilância em saúde. *Hygeia* 2018; 14(28): 121-138.
- De Araújo VEM, Pinheiro LC, Almeida MCM, Menezes FC, Morais MHF, Reis IA, et al. Relative risk of visceral leishmaniasis in Brazil: a spatial analysis in urban area. *PLoS Negl Trop Dis* 2013; 7:e2540.
- Faye B, Bucheton B, Bañuls AL, Senghor MW, Niang AA, Diedhiou S, et al. Seroprevalence of *Leishmania infantum* in a rural area of Senegal: analysis of risk factors involved in transmission to humans. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2011; 105(6): 333-340.
- França-Silva JC, Costa RT, Siqueira AM, Machado-Coelho GLL, Costa CA, Mayrink W, et al. Epidemiology of canine visceral leishmaniasis in the endemic área of Montes Claros Municipality, Minas Gerais state, Brazil. *Vet Parasitol* 2003; 111:161-173.

Fernandes ARF, Pimenta CLRM, Vidal IF, Oliveira GC, Sartori RS, Araujo RB, et al. Risk factors associated with seropositivity for *Leishmania* spp. and *Trypanosoma cruzi* in dogs in the state of Paraíba, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 2016; 25(1): 90-98.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Divisão regional do Brasil em regiões geográficas imediatas e regiões geográficas intermediárias: 2017 / IBGE, Coordenação de Geografia. - Rio de Janeiro: IBGE, 2017. 82p.

Kesari S, Bhunia GS, Kumar V, Jeyaram A, Ranjan A, Das P. A comparative evaluation of endemic and non-endemic region of visceral leishmaniasis (Kala-azar) in India with ground survey and space technology. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2011; 106(5): 515-523.

Lainson R., Rangel E. *Lutzomyia longipalpis* and the ecoepidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil – A review. *Mem Ins. Oswaldo Cruz* 2005; 100: 811-827.

Lamattina D, Berrozpe PE, Casas N, Moya SL, Giuliani MG, Costa SA, et al. Twice upon a time: The progression of canine visceral leishmaniasis in an Argentinean city. *PLoS ONE* 2019; 14(7): e0219395.

Lima ID, Lima ALM, Mendes-Aguiar CO, Coutinho JFV, Wilson ME, Pearson RD, et al. Changing demographics of visceral leishmaniasis in northeast Brazil: Lessons for the future. *PLoS Negl Trop Dis* 2018; 12(3): e0006164.

Lana RS, Michalsky EM, Lopes LO, Lara-Silva FO, Nascimento JL, Pinheiro LC, et al. Ecoepidemiological aspects of visceral leishmaniasis in an endemic area in the Steel Valley in Brazil: An ecological approach with spatial analysis. *PLoS ONE* 2018; 13(10): e0206452.

Machado CJS, Silva EG, Vilani RM. O uso de um instrumento de política de saúde pública controverso: a eutanásia de cães contaminados por leishmaniose no Brasil. *Saúde e Soc* 2016; 25(1): 247-258.

Marcondes M, Rossi CN. Leishmaniose visceral no Brasil. *Braz J Vet Res An Sci* 2013; 50(5): 341-352.

- Monteiro EM, Silva JCF, Costa RT, Costa DC, Barata RA, Paula EV. Leishmaniose visceral: estudo de flebotomíneos e infecção canina em Montes Claros, Minas Gerais. *Rev Soc Bras Med Trop* 2005; 38: 147-152.
- Nieto P, Malone JB, Bavia ME. Ecological niche modeling for visceral leishmaniasis in the state of Bahia, Brazil, using genetic algorithm for rule-set prediction and growing degree day-water budget analysis. *Geospat Health* 2006; 1(1): 115-126.
- Oliveira CDL, Morais MHF, Machado-Coelho GLL. Visceral leishmaniasis in large Brazilian cities: challenges for control. *Cad Saúde Pública* 2008; 24(12): 2953-2958.
- Pan American Health Organization – PAHO. *Leishmaniasis: Epidemiological Report in the Americas*. Washington: Pan American Health Organization; 2018.
- Pavarini SC, Menciondo EM, Montañó M, Almeida DMF, Menciondo MSZ, Barham EJ, et al. Sistema de informações geográficas para a gestão de programas municipais de cuidado a idosos. *Texto Contexto Enferm* 2008; 17(1): 17-25.
- Pimentel DS, Ramos RA, Santana MA, Maia CS, de Carvalho GA, da Silva HP, et al. Prevalence of zoonotic visceral leishmaniasis in dogs in an endemic area of Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2015; 48(4): 491-493.
- Rangel EF, Vilela ML. *Lutzomyia longipalpis* (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. *Cad Saúde Pública* 2008; 24: 2948–2952
- Ribeiro MA, Albuquerque IMN, Paiva GM, Vasconcelos JPC, Araújo MAVF, Vasconcelos MIO. Georreferenciamento: ferramenta de análise do sistema de saúde de sobral - Ceará. *Sanare* 2014; 13(2): 63-69.
- Silva AVM, de Paula AA, Cabrera MAA, Carreira JCA. Leishmaniose em cães domésticos: aspectos epidemiológicos. *Cad. Saúde Pública* 2005; 21 (1): 324-328.

Silva RBS, Mendes RS, Santana VL, Souza HC, Ramos CPS, Souza AP, et al. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral canina na zona rural do semiárido paraibano e análise de técnicas de diagnóstico. *Pesq Vet Bras* 2016; 36(7): 625-629.

Silva RBS, Porto ML, Barbosa WO, Souza HC, Marques NFDSP, Azevedo SS, et al. Seroprevalence and risk factors associated with canine visceral leishmaniasis in the State of Paraíba, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2018; 51(5): 683-688.

Thrusfield M. 2007. *Veterinary Epidemiology*. Oxônia: Oxford. 610p.

Ursine RL, Dias JVL, Morais HA, Pires HHR. Human and canine visceral leishmaniasis in an emerging focus in Araçuaí, Minas Gerais: spatial distribution and socio-environmental factors. *Mem Ins. Oswaldo Cruz* 2016; 111(8): 505-511.

Werneck GL. Visceral leishmaniasis in Brazil: rationale and concerns related to reservoir control. *Rev Saúde Pública* 2014; 48(5): 851-855.

WHO – World Health Organization. Urbanization: an increasing risk factor for leishmaniasis. *Wkly Epidemiol Rec* 2002; 44(77): 365–370.

WHO – World Health Organization. *Control of the leishmaniasis*. Geneva: WHO; 2010. [cited 2017 Nov 13] Available from:

[https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44412/WHO\\_TRS\\_949\\_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44412/WHO_TRS_949_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

WHO – World Health Organization. *Leishmaniasis*. Geneva: WHO; 2017. [cited 2017 Nov 13] Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>

### **5 CAPÍTULO III**

#### **INFECÇÃO NATURAL POR *Leishmania infantum* EM GATOS DOMÉSTICOS (*Felis catus*) EM MUNICÍPIO DE TRANSMISSÃO MODERADA NO SEMIÁRIDO BRASILEIRO**

Natural infection by *Leishmania infantum* in domestic cats (*Felis catus*) in moderate transmission municipality in Brazilian semiarid

Raizza Barros Sousa Silva, Roseane de Araújo Portela, Luís Fernando Batista Arruda, Jefferson da Silva Ferreira, Erick Platiní Ferreira Souto, Ana Lucélia de Araújo, Maria de Fátima Madeira, Antônio Flávio Medeiros Dantas, Marcia Almeida de Melo

Trabalho a ser submetido à Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. Uberaba – MG. Qualis B1 – SJR 0,7.



**Infecção natural por *Leishmania infantum* em gatos domésticos (*Felis catus*) em município de transmissão moderada no semiárido brasileiro**

**Raizza Barros Sousa Silva<sup>[1],\*</sup>, Roseane de Araújo Portela<sup>[2]</sup>, Luís Fernando Batista Arruda<sup>[2]</sup>, Jefferson da Silva Ferreira<sup>[1]</sup>, Erick Platiní Ferreira Souto<sup>[1]</sup>, Ana Lucélia de Araújo<sup>[2]</sup>, Maria de Fátima Madeira<sup>[3]</sup>, Antônio Flávio Medeiros Dantas<sup>[1]</sup>, Marcia Almeida de Melo<sup>[1]</sup>**

**RESUMO**

**Introdução:** Descrevem-se os principais aspectos epidemiológicos, clínicos, anatomopatológicos, sorológicos e moleculares da infecção por *Leishmania infantum* em dois gatos, cuja queixa era de lesões cutâneas multicêntricas, nodulares e ulceradas nas orelhas e focinho. **Métodos:** Os animais foram submetidos à avaliação clínica geral, seguida de exames sorológicos, molecular e parasitológico, com cultura e isolamento do parasita, e posterior caracterização isoenzimática. Os animais foram eutanasiados e encaminhados para necropsia.

**Resultados:** O caso 1 era uma gata adulta, sem raça definida e errante. O caso 2 era um gato adulto, sem raça definida e domiciliado. Ambos foram positivos para a presença de anticorpos anti-*Leishmania infantum*. Na citologia dos nódulos cutâneos e linfonodos, puderam ser visualizadas formas amastigotas de *Leishmania* spp. livres e no interior de macrófagos. Na histopatologia, as lesões se caracterizavam por dermatite granulomatosa nodular e/ou ulcerativa, associadas a formas amastigotas de *Leishmania* spp. intralesionais. Por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR), amplificou-se a sequência do minicírculo do kDNA

---

<sup>[1]</sup>.Graduate Program in Veterinary Medicine, Academic Unit of Veterinary Medicine, Federal University of Campina Grande, Patos, Paraíba, Brazil.

\*Corresponding author: Avenida Universitária, s/n, Bairro Santa Cecília, Patos, Paraíba, 58.708-110, Brazil. +55 83 99660-0699. E-mail: raizzabss@hotmail.com

<sup>[2]</sup>.Federal Institute of Paraíba, São Gonçalo Campus, Sousa, Paraíba, Brazil.

<sup>[3]</sup>.Laboratory of Surveillance in Leishmaniasis, Evandro Chagas Research Institute, Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

de *Leishmania infantum*. **Conclusão:** Conclui-se que a infecção por *Leishmania infantum* ocorre em gatos no estado da Paraíba, região Nordeste do Brasil e ressalta-se a necessidade de compreender o perfil imunológico e epidemiológico da leishmaniose visceral na população felina com vistas às medidas de controle em saúde pública.

**Palavras-chave:** Dermatite nodular. Gatos. Infecção por protozoário. Leishmaniose visceral. Zoonoses.

## INTRODUÇÃO

Na América do Sul, o agente etiológico da leishmaniose visceral é a *Leishmania infantum* (sinônimo *L. chagasi*)<sup>1</sup>. No Brasil, o principal vetor desse protozoário são os flebotomíneos *Lutzomyia longipalpis* e os reservatórios são, geralmente, os canídeos domésticos e silvestres<sup>2</sup>. O cão doméstico é considerado o principal reservatório do parasito para a infecção em seres humanos<sup>3</sup>.

Os felídeos selvagens podem ser naturalmente infectados, enquanto que os gatos domésticos podem ser infectados e manifestar a doença acidentalmente<sup>4</sup>, mas, como são capazes de infectar os flebotomíneos, podem agir como reservatórios<sup>5</sup>. Em gatos, a doença já foi relatada na América do Sul<sup>6</sup>, na América do Norte<sup>7</sup>, no Oriente Médio<sup>8</sup> e na Europa<sup>3,9,10</sup>. No Brasil, já foram descritos casos nos estados de Minas Gerais<sup>11</sup>, Mato Grosso do Sul<sup>12</sup>, Rio de Janeiro<sup>13</sup>, Pernambuco<sup>14</sup> e São Paulo<sup>15</sup>. Os gatos afetados apresentavam lesões cutâneas nodulares e/ou ulcerativas nas bordas das orelhas e nariz<sup>6,10,12</sup>.

O diagnóstico de leishmaniose deve ser realizado pelo histórico do paciente, exame dermatológico e pela positividade de pelo menos dois exames diagnósticos específicos. Deve ser realizada pesquisa de amastigotas em esfregaço, cultura para isolamento de *Leishmania*, exame histopatológico das lesões e identificação molecular por reação em cadeia de polimerase (PCR) e anticorpos monoclonais<sup>16</sup>.

O objetivo desse trabalho foi descrever os principais aspectos clínicos, citológicos, anatomopatológicos, sorológicos e moleculares da infecção por *Leishmania infantum* em gatos (*Felis catus*) na Paraíba, Nordeste do Brasil.

## MÉTODOS

Foram acompanhados dois casos de leishmaniose visceral em gatos. Os dados epidemiológicos (sexo, idade, raça, procedência), clínicos e anatomopatológicos foram obtidos a partir dos protocolos clínicos. Os registros fotográficos foram resgatados para complementação da descrição das lesões. O primeiro caso foi diagnosticado na Clínica Médica de Pequenos Animais do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), em setembro de 2013, e o segundo caso foi proveniente do Hospital Veterinário do Instituto Federal da Paraíba (IFPB), localizado em Sousa, Paraíba, em abril de 2014.

A pesquisa de formas amastigostas de *Leishmania sp.* foi realizada nas lesões cutâneas e linfonodos superficiais, submetidas à punção aspirativa por agulha fina (PAAF), e visualizadas após coloração pelo método de Romasnowsky (panótico rápido) e observadas ao microscópio óptico em objetiva de 100x.

Amostras de sangue foram coletadas para realização de hemograma e ensaios sorológicos, como o teste imunocromatográfico rápido DPP® (Dual Path Platform) e o ensaio imunoenzimático ELISA S7®.

Os gatos foram eutanasiados, seguindo as boas práticas de eutanásia em animais<sup>17</sup>, e encaminhados para o Laboratório de Patologia Animal da UFCG. Durante a necropsia, fragmentos dos principais órgãos foram colhidos para os diversos exames. Alguns fragmentos foram fixados em formol tamponado a 10%, clivados, processados rotineiramente para histopatologia e corados por hematoxilina e eosina (HE).

Amostras de fígado, baço, medula óssea, linfonodo e lesão cutânea foram cultivadas em meio bifásico NNN (NNN ágar sangue ovino), como descrito por Nicole, Novy e Neal<sup>18</sup>, e LIT (*Liver Infusion Tryptose*). Os tubos foram mantidos a 22°C, com repiques a cada 12 dias. Os mesmos tecidos foram submetidos à extração de DNA para realização da PCR.

A extração de DNA das amostras foi realizada empregando-se o reagente Brazol®, seguindo as recomendações do fabricante. Como controle positivo da PCR, utilizaram-se amostras de DNA extraídas de cultivo de *L. infantum*, mantidas em LIT, e caracterizada pelo perfil de isoenzima no Laboratório de Vigilância em Leishmanioses/IOC/FIOCRUZ. Após a extração, o DNA foi eluído em 50µl de tampão TRIS-EDTA (10mM Tris-Cl, pH 7,5 e 1mM de EDTA, pH 8,0) e a concentração foi medida em espectrofotômetro (Eppendorf/BioPhotometerplus).

Para a amplificação da sequência do minicírculo do kDNA de *L. infantum*, foram utilizados os iniciadores LINR4 (5'-GGGGTTGGTGTAATAAGGG-3') e LIN19 (5'-CAGAACGCCCCTACCCG-3'), que amplificam um produto de 720 pares de base<sup>19</sup>. A reação de amplificação seguiu o protocolo detalhado por Silva et al.<sup>20</sup>.

Após o isolamento, a caracterização isoenzimática foi realizada no Laboratório de Vigilância em Leishmanioses, Instituto de Pesquisas Evandro Chagas, da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), no Rio de Janeiro. As promastigotas isoladas foram caracterizadas por eletroforese de enzimas multilocus (*Multilocus Enzyme Electrophoresis* – MLEE). A MLEE foi realizada em gel de agarose a 1%, como descrito por Cupolillo et al.<sup>21</sup>. Cinco sistemas enzimáticos foram usados: Glucose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH, EC.1.1.1.49), 6-fosfogliconato desidrogenase (6PGDH, EC.1.1.1.43), glicose-fosfato isomerase (GPI, EC.5.3.1.9), nucleosídeo hidrolase (NH, EC. 3.2.2.1) e enzima málica (ME, EC.1.1.1.40). Os géis foram analisados por determinação da mobilidade eletroforética das bandas, baseada nos padrões de posição de referência das amostras de *Leishmania chagasi* (MHOM/BR/74/PP75)

e *Leishmania braziliensis* (MHOM/BR/75/M2903) obtidas da coleção do Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ (CLIOC).

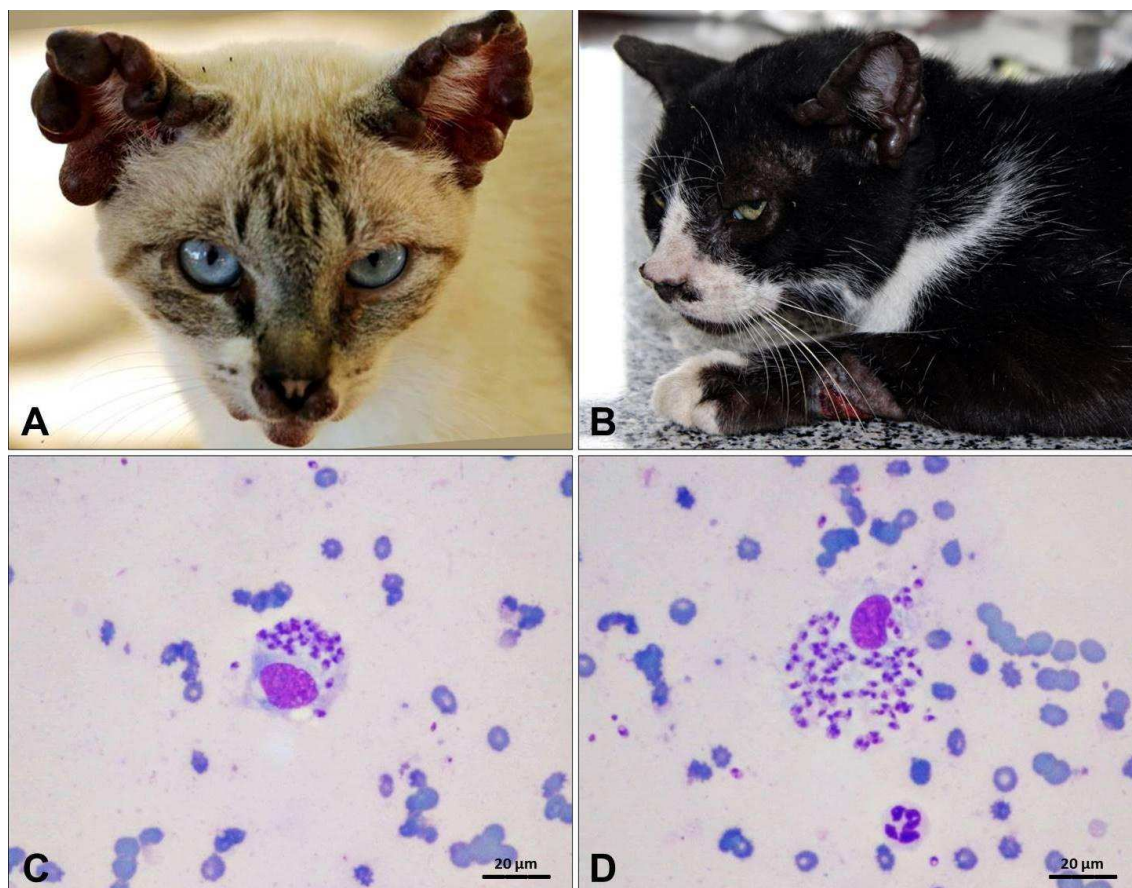
## RESULTADOS

Dois gatos (*Felis catus*), provenientes do município de Sousa, Paraíba, Nordeste do Brasil, foram levados ao hospital veterinário do CSTR/UFCG e do IFPB por apresentarem lesões cutâneas multicêntricas.

O animal 1 era uma gata adulta, sem raça definida e errante, que apresentava lesões nodulares, não ulceradas, nas extremidades das orelhas, focinho, lábios (superior e inferior) e pálpebra inferior direita, medindo de 0,3 a 1,5 cm de diâmetro (Figura 1A). Havia ainda lesões não nodulares e ulceradas no dorso, na extremidade da cauda e nos membros torácicos na região dos metacarpos. À palpação, constatou-se aumento dos linfonodos submandibulares, pré-escapulares e poplíteos.

O animal 2 era um gato adulto, sem raça definida e com tutor, que apresentava condição corporal ruim, desidratação, pelos opacos e quebradiços, dificuldade respiratória e lesões nodulares não ulceradas nas extremidades das orelhas, focinho e pálpebra esquerda, medindo de 0,3 a 1,0 cm de diâmetro. Havia ainda lesões não nodulares e ulceradas nos membros torácicos (Figura 1B).

Nas citologias da medula óssea, baço e fígado, nos dois animais foram visualizadas estruturas compatíveis com amastigotas de *Leishmania* spp, no interior de macrófagos ou livres, com citoplasma globoso ou ovalado de limite evidente, núcleo basofílico e cinetoplasto próximo ao núcleo (Figuras 1C e 1D).



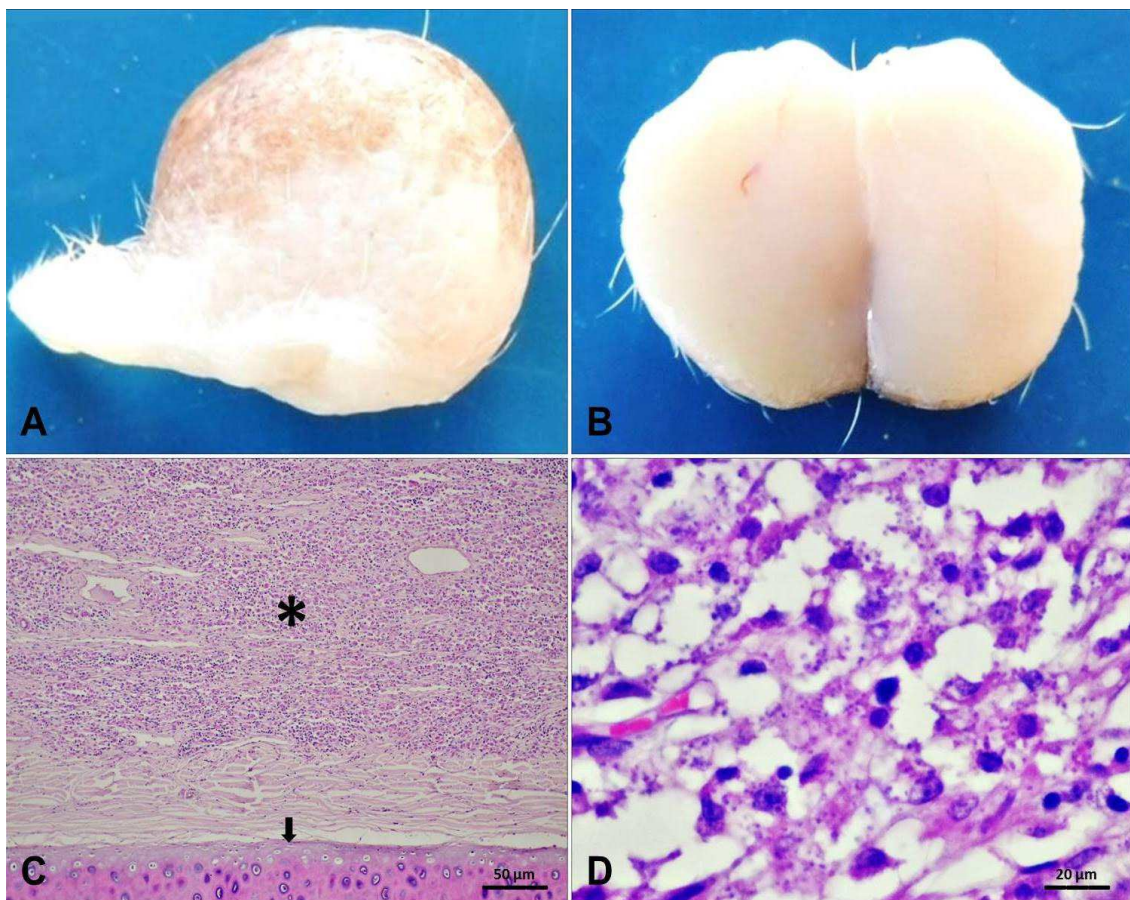
**Figura 1.** Leishmaniose felina. A) Caso 1. Lesões nodulares nas extremidades das orelhas, focinho, lábios e pálpebra inferior direita. B) Caso 2. Lesões nodulares nas extremidades das orelhas e ulceradas no membro torácico esquerdo. C. Amastigotas de *Leishmania infantum* no interior de macrófago. Panótico rápido. Obj. 40x. D. Amastigotas de *Leishmania infantum* livres. Panótico rápido. Obj. 40x.

Macroscopicamente, as lesões nodulares eram macias, homogêneas e branco-amareladas ao corte (Figuras 2A e 2B). No animal 1, o fígado e o baço estavam aumentados (hepatoesplenomegalia) e os linfonodos submandibulares, pré-escapulares e poplíteos aumentados (linfadenomegalia) e com perda da distinção córtico-medular. No caso 2, os linfonodos mediastínicos estavam aumentados.

Na histopatologia, em ambos os casos, as lesões caracterizavam-se por dermatite granulomatosa nodular e/ou ulcerativa, acentuada, associada a amastigotas de *Leishmania* spp. intralesionais. Observou-se espessamento da derme superficial e profunda por infiltrado inflamatório de macrófagos, ocasionais células gigantes multinucleadas e raros linfócitos, plasmócitos e células de Mott (Figura 2C). Os macrófagos e células gigantes estavam repletos



de estruturas basofílicas, medindo de 2-4 $\mu$ m, variando de redondas a ovaladas e, por vezes, circundadas por halo claro. Essas estruturas foram ainda visualizadas livres no interstício, isoladas ou formando aglomerados e eram morfológicamente compatíveis com formas amastigotas de *Leishmania* spp. (Figura 2D). Havia ainda discreta fibroplasia e neovascularização em meio à reação inflamatória. Em algumas lesões, foi possível observar áreas multifocais de ulceração e necrose da epiderme suprajacente.



**Figura 2.** Leishmaniose felina. A) Nódulo cutâneo da região auricular. B) Ao corte, o nódulo exibindo superfície homogênea e branco-amarelada. C) Espessamento da derme superficial e profunda por infiltrado inflamatório predominantemente histiocítico (asterisco) na região auricular (seta, cartilagem auricular). HE. Obj. 40x. D) Inúmeras amastigotas de *Leishmania infantum* em meio à reação inflamatória. HE. Obj. 40x.

Nos linfonodos, havia acentuado infiltrado de macrófagos e plasmócitos, com ocasionais células gigantes multinucleadas e células de Mott, estendendo-se da região cortical a medular, causando distensão dos cordões medulares. Observaram-se ainda macrófagos

preenchendo o lúmen dos sinusoides medulares (histiocitose sinusoidal) e hiperplasia folicular linfoide com necrose individual de alguns linfócitos nos centros germinativos. No baço, havia moderada quantidade de macrófagos na polpa branca e presença de células de Mott.

No caso 1, verificaram-se infiltrado inflamatório de macrófagos, linfócitos e plasmócitos na região periportal do fígado. Nos rins, havia a formação de discretos granulomas e presença de ocasionais células de Mott na região cortical. A medula óssea apresentava-se hipercelular, com grande quantidade de histiócitos e precursores hematopoiéticos, e acentuada diminuição do tecido adiposo. Foi possível identificar a deposição de amiloide, mediante coloração por vermelho Congo, nos espaços perissinusoidais do fígado, região medular do rim, e nas polpas branca e vermelha do baço, principalmente na membrana de vasos e capilares sanguíneos. Em todos esses órgãos, os macrófagos e as células gigantes multinucleadas se apresentavam com citoplasma distendido por numerosas formas amastigotas de *Leishmania* spp.

Na PCR da medula óssea e dos demais tecidos, houve amplificação do produto de 720 pares de base, correspondente à sequência do minicírculo do kDNA de *Leishmania infantum*, flanqueada pelos primers LINR4 e LIN19. Através da cultura de medula óssea e dos mesmos tecidos, houve o isolamento e crescimento de formas promastigotas de *Leishmania* spp. Pela eletroforese de enzimas multilocus, foi demonstrado que as formas promastigotas eram de *L. infantum*.

Os hemogramas dos dois casos evidenciaram discreta neutrofilia com desvio à direita, e ambos foram positivos para a presença de anticorpos contra o antígeno recombinante K28 do teste rápido DPP® e contra a proteína recombinante HSP70 do kit ELISA S7®.



## DISCUSSÃO

A leishmaniose visceral canina já foi relatada em vários municípios da Paraíba<sup>20,22,23</sup>. De acordo com o DATASUS, de 2010 a 2017 foram notificados e confirmados 31 casos de leishmaniose visceral humana autóctone em Sousa/PB. O município de Sousa está localizado na região geográfica intermediária Sousa-Cajazeiras, região imediata de Sousa, no oeste do estado da Paraíba, distante 438 km de João Pessoa, capital estadual. A vegetação predominante é constituída pela caatinga hiperxerófila, sem folhas na estação seca, com a abundância de cactáceas e plantas de pequeno porte. O clima é tropical semiárido, com temperatura média anual de 26,7°C e precipitação média de 872 milímetros (mm) anuais, concentrados entre janeiro e abril, sendo março o mês de maior precipitação (227 mm). Estas condições são propícias para a manutenção do vetor, *Lutzomyia longipalpis*. Em Mossoró, Rio Grande do Norte, cuja vegetação predominante também é a caatinga hiperxerófila, a mais alta prevalência do flebótomo ocorreu durante a estação chuvosa<sup>24</sup>. Costa et al.<sup>25</sup> observaram um aumento da coleta de espécimes de *Lutzomyia longipalpis* em meses nos quais a umidade foi acima de 75%.

Os animais possuíam lesões nodulares na pele, ricas em parasitos intra e extracelulares e, no diagnóstico sorológico, foram positivos no ELISA S7® e no DPP®. Em cães, normalmente, a sorologia é positiva no ELISA S7® e no DPP® em animais com lesões de pele e aumento de linfonodos. No Brasil, a *L. infantum* já foi relatada em gatos em áreas endêmicas para a leishmaniose visceral canina e, animais com isolamento de parasitos em tecidos, foram negativos na sorologia e não possuíam lesões de pele<sup>15,26,27</sup>. Este fato pode ocorrer em função da diferença temporal na resposta humoral; a produção de anticorpos pode ser precoce ou tardia de acordo com o antígeno.

A PCR foi positiva em todos os tecidos analisados. Costa et al.<sup>15</sup> observaram que PCR positivas ocorreram em gatos com baixos títulos de anticorpos, sugerindo que a resposta imune à infecção em gatos difere da observada em cães, o que deve explicar o pequeno número de animais infectados e sintomáticos.

As nodulações não ulceradas na extremidade das orelhas, pálpebras e focinho foram observadas em ambos felinos. Essas nodulações difusas na orelha foram encontradas por Bonfante-Garrido et al.<sup>6</sup> em um de quatro gatos relatados. As demais características das lesões clínicas foram semelhantes a outros relatos de leishmaniose em gatos<sup>5-7,12</sup>. Há relatos que não foi observado qualquer sinal clínico em felinos sorologicamente positivos<sup>15,28</sup>. Ou seja, em gatos, a sintomatologia pode apresentar curso semelhante à leishmaniose visceral em cães, desde animais aparentemente saudáveis, passando por oligossintomáticos, até os estágios severos da doença<sup>29,30</sup>. A infecção por *L. infantum* também pode estar associada à infecção por retrovírus felino ou outras enfermidades imunossupressoras<sup>9</sup>.

A visualização das formas amastigotas de aspirados das lesões e/ou linfonodos foi positiva para a maioria dos relatos em gatos sintomáticos<sup>6,12,28</sup> e, assim como nos cães, as lesões parecem ser devido à resposta imune contra os parasitas<sup>31</sup>. Entretanto, o exame citológico negativo de medula, baço e fígado já foi relatado<sup>9</sup>. Costa et al.<sup>15</sup>, em um levantamento sorológico e parasitológico em gatos provenientes de uma região endêmica para leishmaniose visceral canina, observaram que, de 23 (11,50%) animais positivos na sorologia, apenas 8 foram positivos na citologia de linfonodo poplíteo, baço, medula ou fígado; em quatro gatos, as amastigotas foram visualizadas no linfonodo poplíteo; em um no fígado; em outro no linfonodo poplíteo e na medula óssea, e em outros dois os parasitos foram visualizadas no linfonodo poplíteo, baço e medula óssea.

Dentre os achados macroscópicos, Grevot et al.<sup>9</sup> também observaram aumento moderado do baço e hipertrofia difusa da polpa branca em um felino com lesão de pele, e

Costa et al.<sup>15</sup>, apesar de mencionarem hepatoesplenomegalia em dois gatos soropositivos, não afirmam que seja em função da infecção por *Leishmania*. De acordo com Feitosa et al.<sup>32</sup>, as leishmanias se multiplicam em macrófagos do fígado e baço, produzindo eventualmente hepatoesplenomegalia, e, geralmente, uma hepatite, que é frequentemente observado em cães com leishmaniose visceral<sup>32</sup>.

Histologicamente, as lesões na derme são semelhantes e sempre associadas à presença das formas amastigotas, seja intracelular ou no interstício, ou apresentando outra patologia concomitante<sup>7,9</sup>. Neste trabalho, relata-se a presença das células de Mott e células gigantes multinucleadas na derme, linfonodo e baço. A presença das células de Mott se dá devido à produção excessiva de proteínas (imunoglobulinas) em infecções crônicas<sup>33</sup>, descrita em felinos com linfoma de linfócito B<sup>34</sup>, mas já observada em cães com leishmaniose visceral<sup>35</sup>. Outro achado particular descrito aqui são as lesões de amiloidose renal, esplênica e hepática encontradas no Caso 1. Grevot et al.<sup>9</sup> encontraram lesões de discreta fibrose hepática e hialinose da veia central, glomerulonefrite membranosa, além de infiltrado inflamatório na glândula parótida e intestino. Sugere-se que a amiloidose relatada no presente artigo seja melhor esclarecida, pois pode ocorrer devido a outras infecções ou quadros sistêmicos.

Finalmente, pode-se concluir que a infecção por *Leishmania infantum* ocorre em gatos no estado da Paraíba, região Nordeste do Brasil. Porém, não existe nenhuma medida de controle indicada quando o gato é acometido da infecção. Dessa forma, ressalta-se a necessidade de compreender melhor o perfil imunológico e epidemiológico da leishmaniose visceral na população felina com vistas à saúde pública. Recomenda-se a inclusão dessa enfermidade como diagnóstico diferencial na espécie felina.

### **Agradecimentos**

Aos Hospitais Veterinários da UFCG e do IFPB e à FIOCRUZ pelo suporte para o desenvolvimento desse trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos.

### **Conflito de interesses**

Os autores declaram que não há conflito de interesses.

### **REFERÊNCIAS**

1. Missawa NA, Lima GBM. Distribuição espacial de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) e *Lutzomyia cruzi* (Mangabeira, 1938) no Estado de Mato Grosso. Ver. Soc. Bras. Med. Trop. 2006; 39: 337-40.
2. Oliveira LS, Julião FS, Souza VMM, Freitas DS, Souza BMPS, Paule BJA, et al. A utilização da imunofluorescência indireta no diagnóstico de rotina da leishmaniose visceral canina e suas implicações no controle da doença. Ci. Anim. Bras. 2005; 6 (1): 41-7.
3. Solano-Gallego L, Koutinas A, Miró G, Cardoso L, Pennisi MG, Ferrer L, et al. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. Vet. Parasitol. 2009; 165: 1–18.
4. Hoogstraal H, Dietlein DR. Leishmaniasis in the Sudan Republic: recent results. Bull. World Health Organ. 1964; 31 (1):137-43.

5. Pennisi M, Cardoso L, Baneth G, Bourdeau P, Koutinas A, Miró G, et al. LeishVet: update and recommendations on feline leishmaniosis. *Parasit.Vectors*. 2015; 8 (302): 1-18.
  
6. Bonfante-Garrido R, Valdivia O, Torrealba J, García MT, Garófalo MM, Urdaneta, I, et al. Cutaneous leishmaniasis in cats (*Felis domesticus*) caused by *Leishmania* (*Leishmania venezuelensis*). *Rev. Científica FCV-LUZ*. 1996; 6 (3): 187-90.
  
7. Trainnor KE, Porter BF, Logan KS, Hoffman RJ, Snowden KF. Eight cases of feline cutaneous leishmaniasis in Texas. *Vet. Pathol*. 2010; 47 (6): 1076-81.
  
8. Solano-Gallego L, Rodriguez-Cortes A, Iniesta L, Quintana J, Pastor J, Espada Y, et al. Cross-sectional serosurvey of feline leishmaniasis in ecoregions around the Northwestern Mediterranean. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 2007; 76 (4): 676-80.
  
9. Grevot A, Jaussaud Hugues P, Marty P, Pratlong F, Ozon C, Haas P, et al. Leishmaniasis due to *Leishmania infantum* in a FIV and FeLV positive cat with a squamous cell carcinoma diagnosed with histological, serological and isoenzymatic methods. *Parasite*. 2005; 12 (3), 271-5.
  
10. Pocholle E, Reyes-Gomez E, Giacomo A, Delaunay P, Hasseine L, Marty P. A case of feline leishmaniasis in the south of France. *Parasite*. 2012; 19 (1): 77-80.
  
11. Passos VMA, Lasmar EB, Gontijo CMF, Fernandes O, Degrave W. Natural infection of a domestic cat (*Felis domesticus*) with *Leishmania* (*Viannia*) in the Metropolitan Region of Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 1996; 91 (1): 19-20.

12. Souza AI, Nunes VLB, Borralho VM, Ishikawa EAY. Domestic feline cutaneous leishmaniasis in the municipality of Ribas do Rio Pardo, Mato Grosso do Sul state, Brazil: a case report. J. Venom. Anim. Toxins. Incl. Trop. Dis. 2009; 15 (2): 359-65.
  
13. Figueiredo FB, Pereira SA, Gremião IDF, Nascimento LD, Madeira MF, Schubach TMP. Leishmaniose tegumentar americana em felino doméstico no município do Rio de Janeiro, Brasil – relato de caso. Rev. Clin. Vet. 2008; 74: 58-60.
  
14. Silva RC, Ramos RA, Pimentel DS, Oliveira GM, Carvalho GA, Santana MA, et al. Detection of antibodies against *Leishmania infantum* in cats (*Felis catus*) from the State of Pernambuco, Brazil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2014; 47 (1): 108-9.
  
15. Costa TAC, Rossi CN, Laurenti MD, Gomes AAD, Vides JP, Sobrinho LSV, et al. Occurrence of leishmaniasis in cats from endemic area for visceral leishmaniasis. Braz. J. Vet. Res. An. Sci. 2010; 47 (3): 213-7.
  
16. Sampaio RNR, Gonçalves MC, Leite VA, França BV, Santos G, Carvalho MSL, et al. Estudo da transmissão da leishmaniose tegumentar americana no Distrito Federal. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2009; 42 (6), 686-90.
  
17. CFMV – Conselho Federal de Medicina Veterinária. Guia Brasileiro de Boas Práticas em Eutanásia em Animais - Conceitos e Procedimentos Recomendados. 1 ed. Brasília, 2012; 62p. Available from:  
<http://portal.cfmv.gov.br/uploads/files/Guia%20de%20Boas%20Pr%C3%A1ticas%20para%20Eutanasia.pdf.pdf>

18. Novy FG, McNeal WJ. On the cultivation of *Trypanosoma brucei*. J. Infect. Dis. 1904; 1 (1): 1–30.
  
19. Aransay AM, Scoulica E, Tselentis Y. Detection and identification of *Leishmania* DNA within naturally infected sand flies by seminested PCR on minicircle kinetoplastic DNA. J. Appl. Environ. Microbiol. 2000; 66 (5): 1933-8.
  
20. Silva RBS, Mendes RS, Santana VL, Souza HC, Ramos CPS, Souza AP, et al. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral canina na zona rural do semiárido paraibano e análise de técnicas de diagnóstico. Pesqui. Vet. Bras. 2016; 36 (7): 625-9.
  
21. Cupolillo E, Grimaldi Jr. G, Momen H. A general classification of new world leishmania using numerical zymotaxonomy. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1994; 50 (3): 296-311.
  
22. Fernandes ARF, Pimenta CLRM, Vidal IF, Oliveira GC, Sartori RS, Araújo RB, et al. Risk factors associated with seropositivity for *Leishmania* spp. and *Trypanosoma cruzi* in dogs in the state of Paraíba, Brazil. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 2016; 25 (1): 90-8.
  
23. Silva RBS, Porto ML, Barbosa WO, Souza HC, Marques NFSP, Azevedo SS et al. Seroprevalence and risk factors associated with canine visceral leishmaniasis in the State of Paraíba, Brazil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2018; 51 (5): 683-8.

24. Amóra SSA, Bevilaqua CML, Dias EC, Feijó FMC, Oliveira PGM, Peixoto GCX, et al. Monitoring of *Lutzomyia longipalpis* Lutz & Neiva, 1912 in area of intense transmission of visceral leishmaniasis in Rio Grande do Norte, Northeast Brazil. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 2010; 19 (1): 39-43.
25. Costa PL, Dantas-Torres F, Da Silva FJ, Guimarães VC, Gaudêncio K, Brandão-Filho SP. Ecology of *Lutzomyia longipalpis* in an area of visceral leishmaniasis transmission in north-eastern Brazil. Acta Trop. 2013; 126 (2): 99-102.
26. Vides JP, Schwardt TF, Sobrinho LSV, Marinho M, Laurenti MD, Biondo AW, et al. *Leishmania chagasi* infection in cats with dermatologic lesions from an endemic area of visceral leishmaniosis in Brazil. Vet. Parasitol. 2011; 178: 22–8.
27. Sobrinho LS, Rossi CN, Vides JP, Braga ET, Gomes AA, De Lima VM, et al. 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. Vet. Parasitol. 2012; 187: 302-6.
28. Bresciani KDS, Serrano ACM, Matos LVS, Savani ESM, D'Auria SRN, Perri SHV, et al. Ocorrência de *Leishmania* spp. em felinos do município de Araçatuba, SP. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 2010; 19 (2): 127-9.
29. Gontijo CMF, Melo MN. Leishmaniose Visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. Rev. Bras. Epidemiol. 2004; 7 (3): 338-49.



30. Akhtardanesh B, Sharifi I, Mohammadi A, Mostafavi M, Hakimmipour M, Pourafshar NG. Feline visceral leishmaniasis in Kerman, southeast of Iran: Serological and molecular study. *J. Vector. Borne Dis.* 2017; 54 (1): 96-102.
31. Hervás J, Chacón-Manrique De Lara F, Lopez J, Gómez-Villamandos JC, Guerrero MJ, Moreno A. Granulomatous (pseudotumoral) iridocyclitis associated with leishmaniasis in a cat. *Vet. Rec.* 2001; 149: 624-5.
32. Feitosa MM, Ikeda FA, Luvizotto MCR, Perri SHV. Aspectos clínicos de cães com leishmaniose visceral no município de Araçatuba, São Paulo (Brasil). *Clin. Vet.* 2000; 5 (28): 36-44.
33. McGavin MD, Zachary JF. *Bases da Patologia em Veterinária*. 5th ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2013. 1344p.
34. Kanehara T, Matsui N, Murakami M, Maruo K, Mori T, Hirata A, et al. B-cell lymphoma with Mott cell differentiation in a cat. *Vet. Clin. Pathol.* 2016; 45 (2): 356–60.
35. Lima AMV, Santos AS, Faleiro MBR, Moura VMBD, Brito FLC, Brito LAB. Imunomarcção de *Leishmania* sp. e aspectos histológicos na terceira pálpebra de cães naturalmente infectados por *Leishmania (leishmania) chagasi*. *Ciênc. Anim. Bras.* 2015; 16 (4): 538-47.

## 6 CONCLUSÃO

A partir dos capítulos que compõe a presente tese, resumidamente, pode-se concluir que:

- Os dados de prevalência, os fatores de risco e a localização do *cluster* espacial contribuem para o direcionamento das medidas de controle e prevenção da leishmaniose visceral, maximizando a eficiência do programa e minimizando a chance de ocorrer novos casos caninos e humanos.
- A partir das análises dos fatores de risco, foram comprovadas diferenças epidemiológicas importantes entre as zonas rural e urbana de Santa Luzia, podendo sugerir atividades de educação em saúde, de posse responsável, que controle o acesso dos cães à rua, além de melhorar as condições de habitação da população.
- A leishmaniose visceral canina, no município de Santa Luzia apresentou-se com elevada prevalência, porém com heterogeneidade espacial em relação ao número de casos e ao risco relativo de adquirir a doença, com dois bairros periféricos sendo considerados áreas de alto risco, devendo ser priorizados.
- O primeiro relato de infecção natural por *Leishmania infantum* em gatos no estado da Paraíba, região Nordeste do Brasil ressalta a necessidade de compreender a participação dessa espécie na epidemiologia da leishmaniose visceral, pois não existe nenhuma medida de controle indicada quando o gato é acometido da infecção.

## 7 APÊNDICE

**LABORATÓRIO DE BIOLOGIA MOLECULAR DO SEMIÁRIDO**  
**QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO - LVC**

N: \_\_\_\_\_

<b>I DADOS DO PROPRIETÁRIO</b>	
1- Nome: _____	
2- Endereço: _____	Cidade: _____
3- Coordenadas: _____	
4- Telefone: _____	
5- Grau de escolaridade: ( ) Analfabeto ( ) Ensino Fundamental incompleto ( ) EF completo (8/9ª série) ( ) Ensino Médio incompleto ( ) EM completo (3º ano) ( ) Ensino Superior incompleto ( ) ES completo	
6- Renda familiar: ( ) Menos de 2 salário mínimo ( ) 2 a 4 ( ) 5 a 6 ( ) + 6	
<b>II DADOS DO ANIMAL</b>	
7- Nome: _____	8- Sexo: ( ) Macho ( ) Fêmea
9- Idade: ( ) 6 – 12m ( ) 13 – 24m ( ) 25 – 48m ( ) 4 – 6 anos ( ) +6 anos	
10- Raça: ( ) Sem raça definida ( ) Com raça definida. Qual? _____	
<b>III MANEJO</b>	
11- Tipo de criação: ( ) Domiciliar ( ) Semi-domiciliar ( ) Solto	
12- Alimentação: ( ) Ração comercial ( ) Alimento caseiro ( ) Ambos	
13- Tem contato com outros animais? ( ) não ( ) sim	
14 – Se sim, com quais? ( ) Equídeos ( ) Caprinos ( ) Ovinos ( ) Bovinos ( ) Suínos ( ) Aves ( ) Felinos ( ) Cães ( ) Silvestres. Quais? _____	
15- Qual o ambiente onde o animal é criado? ( ) Terra ( ) Cimento ( ) Terra/cimento	
16- É realizada limpeza ou desinfecção do local? ( ) Não ( ) Sim	
17- Com que frequência? ( ) Diária ( ) Semanal ( ) Quinzenal ( ) Mensal	
18- O animal tomou alguma vacina? ( ) Não ( ) Sim Qual? ( ) Anti-rábica ( ) Vírozes	
19- O animal já foi vermifugado? ( ) Não ( ) Sim Quando? _____	
20- O animal apresenta ou já apresentou carrapatos? Detalhar. _____	
21- O animal sempre morou com o proprietário? ( ) Não ( ) Sim	
22- O animal foi adotado? ( ) da rua ( ) tinha outro proprietário.	
23- O animal sempre morou nessa cidade? ( ) Não ( ) Sim Se NÃO: Local anterior? _____ Há quanto tempo mora aqui? _____	
24- O animal é usado para caça? ( ) Não ( ) Sim	
25- Onde o animal dorme? ( ) Dentro de casa ( ) No Peridomicílio ( ) Na rua	
26- Como passa a noite? ( ) Amarrado ( ) Solto	
27- Quando viaja, leva-o junto? ( ) Não ( ) Sim Há quanto tempo e Local? _____	
28- O animal faz/fez uso de coleiras repelentes? ( ) Não ( ) Sim	
- Aspecto geral do animal: ( ) Bom ( ) Magro ( ) Lesão de pele ( ) Falha no pelo ( ) Unhas grandes ( ) Lesão no olho ( ) Linfonodos aumentados ( ) Barriga grande ( ) Hiperqueratose (nariz/patas espessados) Outros sinais clínicos: _____	