

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA
CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM SAÚDE PÚBLICA VETERINÁRIA**

MONOGRAFIA

**Prevalência de Leishmaniose Visceral Canina no Município de Caicó, Rio Grande
do Norte, Brasil: soroprevalência, fatores de risco e isolamento do agente.**

Maria das Graças Nóbrega Batista

2008



**Universidade Federal
de Campina Grande**

**CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA
CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM SAÚDE PÚBLICA VETERINÁRIA**

MONOGRAFIA

**Prevalência de Leishmaniose Visceral Canina no Município de Caicó, Rio Grande
do Norte, Brasil: soroprevalência, fatores de risco e isolamento do agente.**

Maria das Graças Nóbrega Batista

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Marcia de Almeida Melo

Área de Concentração: Zoonoses

Patos – PB

Setembro de 2008



FICHA CATALOGADA NA BIBLIOTECA SETORIAL DO
CAMPUS DE PATOS - UFCG

B3331
2008

Batista, Maria das Graças Nóbrega.

Leishmaniose Visceral Canina no Município de Caicó, Rio Grande do Norte, Brasil: Soroprevalência, Fatores de Risco e Isolamento do Agente. / Maria das Graças Nóbrega Batista- Patos - PB: CSTR, UFCG, 2008.

50 p. il.

Inclui bibliografia.

Orientador (a): Márcia de Almeida Melo.

Monografia (Especialização em Saúde Pública Veterinária) – Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande.

1 – Medicina Veterinária Preventiva - Monografia. 2 – Leishmaniose Visceral - canina. I - Título

CDU: 614:619



Biblioteca Setorial do CDSA. Maio de 2022.

Sumé - PB

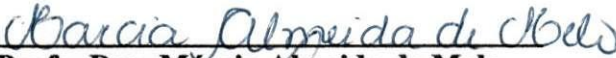
UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA
CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM SAÚDE PÚBLICA VETERINÁRIA


MARIA DAS GRAÇAS NÓBREGA BATISTA

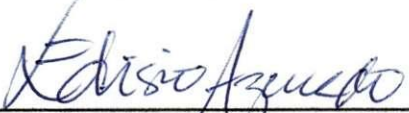
Monografia apresentada à Coordenação de Pós – Graduação do Curso de Especialização de Saúde Pública Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Saúde Pública Veterinária.

APROVADO EM: 27/09/2008

BANCA EXAMINADORA


Profa. Dra. Márcia Almeida de Melo
Orientadora


Prof. Dr. Sérgio Santos de Azevedo
1º Examinador


Prof. Dr. Edisio Oliveira de Azevedo
2º Examinador

DEDICATÓRIA

A todos os animais de rua

Que são abandonados, maltratados e desrespeitados

Pelos homens e que por não possuírem um lar tem como

Destino, principalmente nos grandes centros urbanos, uma curta

Estadia nos CCZ's de todo o mundo, tendo como destino

A eutanásia.

Espero do fundo de minha alma, que um dia os homens

Respeitem a vida de toda criatura divina e possam viver harmonicamente

No planeta "Terra".

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar ao Mestre Deus por ter me proporcionado a graça da vida e por sempre estar a me proteger nos atropelos do caminho, assim mostrando a melhor forma de aprender com a vida. Agradeço por, em muitos momentos, ter me presenteado com o dom da paciência, e através disso me ensinando a viver uma dia por vez e, com isso, ter a oportunidade de tirar lições dos momentos vividos, seja eles momentos bons ou ruins.

Aos meus pais, Marilena Pereira Batista e Joventino Aprígio Neto, ao meu irmão, Geovane e meu sobrinho Samuel por todo amor, carinho e cuidado doados a mim, e por acreditarem no meu trabalho.

A minha orientadora, Dr.^a Márcia Almeida de Melo. Agradeço pelo companheirismo, amizade, e principalmente pela paciência de me passar seus conhecimentos científicos e também de vida durante esse tempo de convivência.

Aos funcionários do Centro de Controle de Zoonoses de Caicó, Antonio Bezerra, Neto, Dinha, Jasiel e todos os demais funcionários pelo apoio e ajuda na parte prática desse trabalho.

A Secretaria Municipal de Saúde de Caicó pelo apoio material e de mão de obra que foi de grande importância para a concretização desse trabalho.

Aos meus amigos Adriana, Expedito, Aline, Kamilla, Diflândia que muito me ajudaram na parte de coleta de material e nas análises laboratoriais, a ajuda de todos vocês foi de fundamental importância, pois é no dia a dia que se constrói uma grande amizade.

Aos membros da banca examinadora Prof. Dr. Sergio, Prof. Dr. Edisio e minha orientadora Prof.^a Dr.^a Márcia, pela disponibilidade em avaliar esse trabalho assim contribuindo para meu conhecimento profissional.

Ao Prof. Dr. Paulo Andrade, por todos os conselhos e as sábias sugestões que foi de grande importância para o melhoramento desse trabalho.

Enfim a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho, os meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

RESUMO.....	09
ABSTRACT.....	10
1 – INTRODUÇÃO.....	11
2 – REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1 – Histórico e Aspectos Gerais.....	12
2.2 – Agente Etiológico e Vetor.....	14
2.3 – Características Epidemiológicas.....	14
2.4 – Patogenia e Características Clínica.....	16
2.5 – Diagnóstico.....	21
2.6 – Tratamento e Controle.....	23
3 – MATERIAL E MÉTODOS.....	26
4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
6 – CONCLUSÃO.....	39
7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40
8 – ANEXOS.....	46

LISTA DE TABELA

Tabela 1. Prevalência de LVC em 2001, 2002 e 2003, realizado pela FUNASA usando o teste de RIFI, e em 2008, com o teste ELISA S7 realizado pela Secretaria de Saúde de Caicó.....	29
Tabela 2. Total da amostra, número de cães positivos e prevalência LVC, por bairro, no município de Caicó/RN.....	30
Tabela 3. Prevalência e características espaciais dos bairros com cães reagentes para LVC, no município de Caicó/ RN.....	30
Tabela 4. Número e porcentagem de cães soropositivos ao teste de ELISA, quanto ao sexo no município de Caicó/RN.....	33
Tabela 5. Amostra por faixa etária, número e porcentagem de cães soropositivos de acordo com a idade no município de Caicó/RN.....	33
Tabela 6. Número e porcentagem de cães soropositivos com relação à presença ou ausência de sintomatologia no município de Caicó/RN.....	34
Tabela 7. Número e porcentagem de cães soropositivos quanto ao tipo de habitat no município de Caicó/ RN.....	35
Tabela 8. Número e porcentagem de cães soropositivos quanto à raça no município de Caicó/RN.....	35
Tabela 9. Número e porcentagem de cães soropositivos, de acordo com o comprimento do pêlo, no município de Caicó/ RN.....	36
Tabela 10. Número e prevalência de reagentes quanto a amostra estudada, comprimento do pêlo, sexo, sintomatologia, modo de vida e raça, dos cães provenientes do Centro de Controle de Zoonoses do município de Caicó/ RN.....	38

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de vida da Leishmania.....	17
Figura 2. Eco-epidemiologia da leishmaniose visceral americana no Estado do Pará..	18
Figura 3. Homem infectado com LVA, apresentando hepatomegalia e esplenomegalia.....	19
Figura 4. Cão necropsiado, apresentando esplenomegalia.....	20
Figura 5. Cão sintomático.....	20

RESUMO

BATISTA, MARIA DAS GRAÇAS NÓBREGA. Prevalência de Leishmaniose Visceral Canina no Município de Caicó, Rio Grande do Norte, Brasil: soroprevalência, fatores de risco e isolamento do agente. Patos, UFCG. 2008,44p. (Especialização em Saúde Pública Animal).

O presente estudo objetivou verificar a prevalência de LVC (leishmaniose visceral canina) e descrever alguns fatores de risco na zona urbana do município de Caicó, Rio Grande do Norte. Foram analisados 358 cães provenientes de todos os bairros do município e 93 cães provenientes do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ). O exame diagnóstico utilizado foi o kit comercial ELISA S7 (Biogene Ind., Recife, Brasil). A prevalência foi de 5,0% (18/358) em cães provenientes dos bairros da cidade e de 15% (14/93) dos animais recolhidos pelo CCZ. Em relação ao sexo, 67% (12) eram machos e 33,3% (6) fêmeas. Quanto a idade, 75% (12) dos cães positivos encontravam-se entre a faixa de 1 a 4 anos de vida. No que se refere à presença ou ausência de sintomas, 93,7% dos cães positivos eram assintomáticos. Analisando o tipo de habitat dos cães, 88% habitavam o peridomicílio das residências. Quanto ao tipo de pelagem, 83% dos cães tinham pêlo curto. Quanto à raça, 66% eram cães sem raça definida (SRD). Esses resultados sugerem uma maior atenção sobre o papel dos cães domésticos como reservatórios desta zoonose, além de reforçar a presença da mesma em áreas recentemente urbanizadas, onde o ecossistema da caatinga foi alterado pelo homem, ou porque vivem em área de risco. As transformações sofridas pelo meio ambiente, tais como secas prolongadas e periódicas, seguidas por intensa migração, urbanização crescente e êxodo rural, vem acarretando a expansão das áreas endêmicas e o aparecimento de novos focos da doença. Há necessidade de medidas de controle efetivas realizadas pela Secretaria de Saúde do Município e do Estado para redução da prevalência.

ABSTRACT

BATISTA, MARIA DAS GRAÇAS NÓBREGA. Prevalence of canine visceral leishmaniasis in Caicó urban area, State of Rio Grande do Norte, Brazil: seroprevalence, risk factors and isolation of the agent. Patos, UFCG, 2008, 44p. (Specialization Course on Animal Public Health).

The present study was aimed at the evaluation of canine visceral leishmaniasis (CVL) prevalence and associated risk factors in the urban area of Caicó, Rio Grande do Norte State. Sera and clinical observations were taken from 358 dogs resident in all city quarters and from additional 93 dogs hosted at the city's Zoonosis Control Center (CCZ). The serodiagnosis was performed using the commercial ELISA S7 CVL kit (Biogene Ind., Recife, Brazil). The prevalence was estimated to be 5.0% (18/358) among dogs from the city quarters and 15% (14/93) among animals hosted in CCZ. Relatively to sex, 67% (12) were males and 33,3% (6) females. As for age, 75% (12) of positive dogs were 1 to 4 years old. Most positive dogs (93.7%) were asymptomatic, had their dwellings outside the house (88%), were short furred (83%) and of mixed breeding (66%). These results point toward the need of greater attention to the role of dogs as host for this zoonosis, as well as to the role urbanization, environment changes and caatinga destruction can play as risk factors for the disease maintenance and prevalence among dogs. Environmental changes due to long, cyclic droughts, followed by human migration and the creation of new suburban settlements are enlarging the endemic areas and prompting the occurrence of new CVL foci. Finally, the study points toward the urgent need of control measures to be taken by the County Health Authority in Caicó aiming at CVL prevalence reduction.

1 – INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral é uma zoonose que acomete o homem quando este entra em contato com o ciclo de transmissão do parasito. Atualmente, encontra-se entre as seis endemias de maior importância mundial, representando um grave problema de saúde pública no Brasil.

A leishmaniose visceral canina (LVC) tem sido notificada em 19 estados, atingido quatro das cinco regiões geográficas do país. Sua maior incidência encontra-se no Nordeste, apresentando, em média, 92% das notificações, seguida pelas regiões Sudeste (4%), Norte (3%), Centro-Oeste (1%). Essa zoonose apresenta uma alta letalidade entre os homens, principalmente em indivíduos não tratados e crianças desnutridas, sendo também considerado emergente em pacientes portadores da infecção pelo vírus da imunodeficiência adquirida (HIV).

A leishmaniose visceral canina vem apresentando uma crescente urbanização, fator esse relacionado aos avanços das grandes cidades que a cada dia invade regiões onde anteriormente seriam áreas de mata fechada e/ou zona rural, obrigando o vetor a se adaptar ao novo ambiente. O êxodo rural também é um fator responsável pelo avanço da urbanização da LVC.

Este trabalho teve como objetivo a busca ativa de cães portadores da leishmaniose visceral e o conhecimento da situação epidemiológica e prevalência desta zoonose no município de Caicó, Rio Grande do Norte.

2 – REVISÃO DE LITERATURA

2.1 – Histórico e Aspectos Gerais

A leishmaniose visceral ou calazar apresenta uma ampla distribuição, tanto no Velho Mundo como nas Américas. Foi descrita pela primeira vez em 1835, na Grécia, e, em seguida, em 1882 na Índia. Na época, chamou atenção por um aspecto típico do calazar na Índia, porém de manifestação pouco conhecida no Brasil, que é o escurecimento da pele. Devido a esse aspecto, derivou-se o primeiro nome dado à patologia, “Febre Negra, Kala-jwar ou Kalazar” (DEANE & DEANE, 1955).

A *Leishmania (L.) donovani* foi o parasito originalmente descrito e ocorre em áreas restritas como a Índia, Bangladesh, Sudão, Paquistão, Nepal e regiões do leste da China. Este protozoário pode provocar, além da forma visceral clássica, a leishmaniose dérmica pós-calazar. O vetor encontrado na região indiana é o *Phlebotomus argentipes* e na região chinesa o *P. alexandri*. (LAINSON e SHAW, 1987; ASHFORD, 1996).

A *Leishmania (L.) infantum* esta amplamente distribuída no Velho Mundo, ocorrendo na Ásia Central, Norte e Noroeste da China, Sudoeste da Ásia (Iraque, Irã, entre outros) e África (Etiópia, Egito, Congo, Quênia, Nigéria, Marrocos, Sudão, Senegal, entre outros). Na Europa, ocorre em Portugal e em todos os países da Bacia do Mediterrâneo, estendendo-se para a Hungria e Romênia. Nos Estados Unidos e no Canadá, levantamento sorológico realizado entre 2000 e 2003, indicou que a LV é endêmica em 18 Estados Americanos e em duas províncias canadenses. (DUPREY et al, 2006)

A *Leishmania (L.) chagasi* tem ampla distribuição geográfica no Novo Mundo, ocorrendo na Argentina, Bolívia, Brasil, Colômbia, Paraguai, Venezuela, Guatemala, Guadalupe, Honduras, Martinica, México e El Salvador. (CUNHA e CHAGAS, 1937).

Existem várias espécies de flebotomíneos vetores da leishmaniose visceral espalhados por todo o mundo, embora alguns sejam apenas suspeitos, com o gênero e a espécie variando de acordo com a região geográfica onde ocorre a doença. Entre eles, pode-se citar: *Phlebotomus ariasi*, *P. perniciosus*, *P. major*, *P. alexandri*, *P. chinensis*, *P. perfiliewi*, *P. tobbi*, *P. longicuspis*, *P. kandelaki*, *P. mongolensis* e *P. caucasicus*. (LAINSON e SHAW, 1987). Porém, o flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis* tem sido

considerado como o único vetor transmissor da *Leishmania chagasi* no Novo Mundo. (TRAVI et al, 1996).

O pesquisador Migone foi o primeiro a assinalar, em 1913, a ocorrência de um caso fatal de leishmaniose visceral proveniente do Brasil quando, em Assunção, no Paraguai, diagnosticou, em exame de necropsia, um caso proveniente do município de Boa Esperança, no Estado do Mato Grosso, sendo comunicado ao Bulletin des Sociétés de Pathologie Exotique de Paris, revista de divulgação científica francesa. Posteriormente, Franchini e Montovani (1913) diagnosticaram, fora do país, outro caso de um paciente residente no Brasil (ALENCAR, 1958; LEITE, 1958; PESSOA, 1967; GONÇALVES et al., 1986 e NASCIMENTO et al., 1996, apud CESSE, 1999).

Desde 1908, quando ocorreram os primeiros relatos da leishmaniose visceral canina, levantou-se a hipótese de que os cães representavam um importante reservatório para a doença. Atualmente, acredita-se que os caninos domésticos e silvestres, sejam os reservatórios primários para a leishmaniose visceral americana. (DIETZE et al, 1997).

Só em 1932, em Pernambuco, Pondé, Mangabeira e Jansen documentaram o primeiro caso de leishmaniose visceral em cães no Brasil (GONÇALVES et al., 1986, apud CESSE, 1999).

Na década de 50, o Departamento Nacional de Endemias (DNERU) iniciou um trabalho de combate sistêmico ao calazar no Ceará e em outros Estados. Esta primeira iniciativa de controle e combate da doença no Brasil teve seus trabalhos interrompidos em 1964. Apenas em 1980, a Superintendência de Campanhas de Saúde Pública (SUCAM) retomou os trabalhos de controle ao calazar. À medida que foi se obtendo maiores informações sobre a doença, obteve-se um melhor conhecimento da sua atual distribuição, que abrange dezenove Estados da Federação, acometendo principalmente os Estados do Nordeste (MS/SVS, 2006).

Devido à importância dos cães como reservatório da LVA, a Fundação Nacional de Saúde (FUNASA) adota no Brasil como medida de controle, em área endêmica, a eliminação destes animais quando são soropositivos para *Leishmania chagasi*. (SILVA, et al, 2005)

2.2 – Agente Etiológico e Vetor

Nas Américas, o agente etiológico da leishmaniose visceral é um parasito da família trypanosomatidea, gênero e sub-gênero *Leishmania* (MS/SVS, 2006).

A leishmania é um parasito intracelular obrigatório das células do sistema fagocítico mononuclear, que apresenta uma forma flagelada ou promastigota, encontrado no tubo digestivo do vetor, e outra forma aflagelada ou amastigota, que é encontrada nos tecidos dos vertebrados. (ACHA e SZYFRES, 1989; VOIGT e KLEINE, 1975)

O vetor da LVA é um inseto díptero pertencente à família Psychodidae, denominado *Lutzomyia longipalpis*, que se adapta facilmente ao peridomicílio e a variadas temperaturas, podendo ser encontrado no interior dos domicílios e em abrigos de animais domésticos. Há alguns indícios de que o maior período de transmissão da LVA ocorre durante e logo após a estação chuvosa, quando há um aumento da densidade populacional do inseto. (MARZOCHI, 1994 apud MONTEIRO et al, 2005). No Estado do Mato Grosso do Sul, a *L. cruzi* também foi incriminada como vetor (GALLATI et al, 1997).

A atividade dos flebotomíneos é crepuscular e noturna. O vetor pode ser encontrado no intra e peridomicílio, principalmente próximo à fonte de alimento. No período diurno, estes insetos ficam em repouso em lugares sombreados e úmidos, protegidos do vento e de predadores naturais. (MS/SVS, 2004)

2.3 – Características Epidemiológicas

A LVC ocorre em áreas urbanas e rurais e tem se tornado um sério problema de saúde pública em algumas grandes cidades brasileiras. Os cães domésticos desempenham um importante papel na manutenção da LVC em ambientes domésticos, servindo de reservatório para o parasito. (ROSÁRIO et al, 2005; ACHA e SZYFRES, 1989). A doença tem sido freqüentemente registrada em grandes centros urbanos. As transformações ambientais, as intensas migrações por pressões econômicas e sociais, a pauperização da população em razão da má distribuição de renda, a crescente urbanização e o êxodo rural provocaram o aumento da incidência dessa endemia, como

o aparecimento de novos focos no Brasil; contribuído para o aumento da morbidade e mortalidade infantil e para a redução na capacidade de trabalho de adultos em plena fase produtiva, podendo assim prejudicar o desenvolvimento da economia das regiões atingidas e gerando grave problema de saúde pública (GAMA et al, 1998).

No Brasil, a leishmaniose visceral apresenta características geográficas, climáticas e sociais diferenciadas da leishmaniose tegumentar, estando distribuída em áreas específicas nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste (MS/SVS, 2004).

A maioria das espécies de *Leishmania* infecta, principalmente, os animais silvestres, em particular os roedores, ocasionalmente, o homem que é considerado hospedeiro acidental. Os canídeos silvestres e domésticos são os principais reservatório da LV, exercendo um importante papel na difusão e manutenção da infecção (MORENO e ALVAR, 2002). O cão é um hospedeiro natural e reservatório da *L. chagasi*, que pode infectar o homem principalmente crianças. No Brasil, a forma de transmissão da LVA se dá através da picada do vetor, *Lutzomyia longipalpis*, infectado pela *Leishmania (L.) chagasi*. Alguns autores admitem a hipótese de poder ocorrer transmissão entre população canina através da ingestão de carrapato infectado e mesmo através de mordeduras, cópula, ingestão de vísceras contaminadas, porém não existem evidências sobre a importância epidemiológica destes mecanismos de transmissão para humanos ou na manutenção da enzootia. Não ocorre transmissão direta de LVA de pessoa a pessoa. A transmissão ocorre quando há o parasitismo na pele ou no sangue periférico do hospedeiro através do vetor (MS/ SVS, 2004).

Em áreas desabitadas, onde se pode contrair a LVA, são os canídeos silvestres, como os chacais na Ásia e a raposa na Europa, entre outros, que mantêm a infecção como zoonose. A inclusão do cão doméstico no ciclo parasitário foi, possivelmente, uma adaptação secundária. No Brasil, os hospedeiros silvestres, até hoje conhecidos, são as raposas e os marsupiais. Duas espécies de raposas foram encontradas naturalmente infectadas: *Lycalopex vetulus*, no Ceará e a *Cerdocyus thous*, no Pará e em Minas Gerais. *L. chagasi* foi isolada em marsupiais do gênero *Didelphis* na Bahia e no Rio de Janeiro. O fato destes animais possuírem hábitos sinantrópicos poderia promover a ligação entre os ciclos silvestres e domésticos. (JESUS et al, 2002 MARZOCHI & MARZOCHI, 1994)

As áreas endêmicas mais importantes nas Américas se localizam na região Nordeste do Brasil, encontrando-se distribuídos nas áreas semi-áridas, sujeita as prolongadas secas. (ACHA e SZYFRES, 1989).

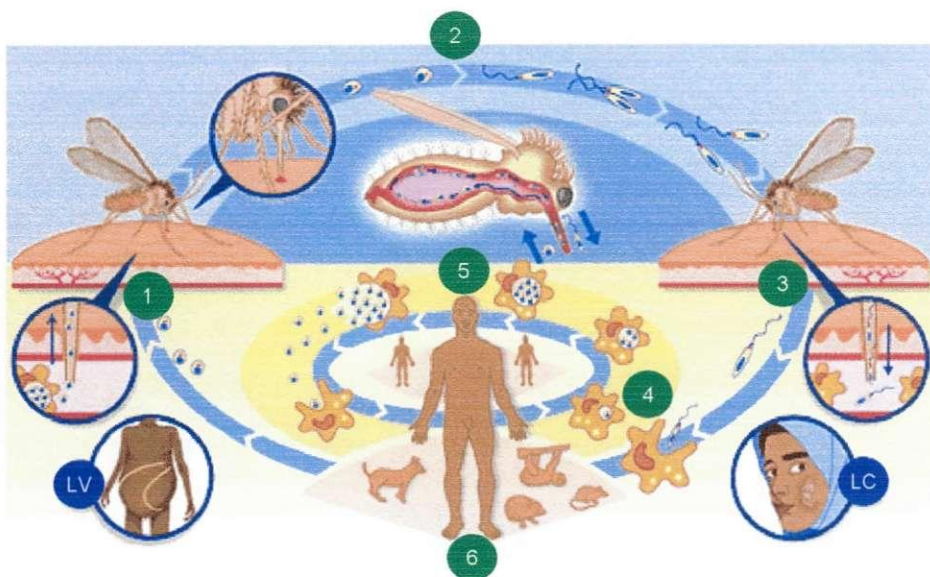
Os dados epidemiológicos dos últimos anos revelam o potencial de urbanização da LV, destacando-se os surtos ocorridos no Rio de Janeiro/RJ, Santarém/PA, Corumbá/MS, Teresina/PI, Natal/RN, São Luís/MA, Fortaleza/CE, Camaçari/BA e Belo Horizonte/MG (MARZOCHI et al., 1985.b.; GENARO et al., 1989; COSTA et al., 1990; TESH, 1995 e CASTRO et al., 1996; apud CESSE, 1999).

Estudiosos da área consideram que a urbanização do calazar está relacionada, à acentuada migração de famílias que, provenientes de regiões endêmicas onde ocorrem secas periódicas, muitas vezes, tendo alguns de seus membros acometidos pela doença ou mesmo acompanhados de cães doentes, vêm se instalar em áreas de poucos recursos, de desmatamento recente, em zonas periurbanas onde já existe o flebotômíneo (GONÇALVES et al., 1986 e COSTA et al., 1990, apud CESSE, 1999).

Nas cidades brasileiras, diversos fatores servem de estímulo para a domiciliação do flebótomo, contribuindo para a ocorrência de transmissão ativa urbana: pobreza, desnutrição, grande número de cães infectados, oferta de fontes alimentares humanas e animais, arborização abundante em quintais, potenciais criadouros de insetos e acúmulo de lixo, presença de abrigos de animais silvestres no perímetro urbano, revelando que o calazar é uma doença de íntimas relações com as condições sociais as quais os indivíduos estão submetidos (OLIVEIRA, 1960; COSTA et al., 1995; FERRO et al., 1995; MORRISON et al., 1995; NASCIMENTO et al., 1996, apud CESSE, 1999).

2.4 – Patogenia e Características Clínica

A infecção do vetor ocorre quando as fêmeas, ao sugarem o sangue de mamíferos infectados, ingerem macrófagos parasitados por formas amastigotas da *Leishmania*. No trato digestivo anterior ocorre o rompimento dos macrófagos liberando essas formas. Reproduzem-se por divisão binária e diferenciam-se rapidamente em formas flageladas denominadas de promastigota, que também se reproduzem por processos sucessivos de divisão binária. As formas promastigotas transformam-se em paramastigotas as quais colonizam o esôfago e a faringe do vetor, onde permanecem aderidos ao epitélio pelo flagelo, quando se diferenciam em formas infectantes – promastigotas metacíclicas (figura 1) (MS/SVS, 2004).



<http://www.who.int/tdr/diseases/leish/lifecycle.htm>

Figura 1. Ciclo de vida da *Leishmania*. 1. O flebótomo ingere macrófagos contendo amastigotas ao se alimentar num mamífero infectado; 2. As formas amastigotas, uma vez liberadas do macrófago no interior do tubo digestivo do inseto, transformam-se em formas promastigotas procíclicas, que se multiplicam intensamente, aderidas ao epitélio de revestimento do trato digestivo. Após 7 a 15 dias, formas metacíclicas infectantes para o hospedeiro vertebrado aparecem na luz do tubo digestivo; 3. Ao se alimentar em outro mamífero, o flebótomo infectado regurgita parte do conteúdo do trato digestivo na lesão recém causada, inoculando assim as formas metacíclicas na pele do hospedeiro; 4. Estas são fagocitadas, transformam-se de volta em amastigotas e proliferam intensamente no fagolisossomo da célula fagocítica; 5. O rompimento das células infectadas libera amastigotas, que vão infectar novas células. O processo lentamente leva a uma infecção sistêmica; 6. O homem e vários outros mamíferos participam do ciclo das leishmanioses, incluindo roedores, edentados, marsupiais e canídeos.

Após a infecção do vetor, as fêmeas, ao realizarem um novo repasto sanguíneo em um hospedeiro vertebrado, liberam as formas promastigota metacíclicas, juntamente com a saliva do inseto. Na epiderme do hospedeiro, estas formas são fagocitadas por células do sistema fagocítico mononuclear. No interior dos macrófagos, no vacúolo parasitóforo, diferenciam-se em amastigotas e multiplicam-se intensamente até o rompimento do mesmo, ocorrendo à liberação destas formas que serão fagocitadas por novos macrófagos num processo contínuo, ocorrendo então a disseminação hematogênica para outros tecidos ricos em células do sistema fagocítico mononuclear, como linfonodos, fígado, baço e medula óssea (GENARO et al, 2003)

No ambiente silvestre, de acordo com o observado na figura 2 (LAISON e RANGEL, 2005, apud MELO, 2006), no Estado do Pará, o ciclo biológico do parasito é mantido em raposas (*Cerdocyon thous*) e, possivelmente, em outros animais silvestres (roedores e edentatos), e a transmissão é realizada pela *Lutzomyia longipalpis*. A presença do vetor no peridomicílio estabelece a infecção no homem e no cão, esta

ultima se torna a principal fonte de infecção para o homem. O ciclo é semelhante em outras regiões, com a mudança de alguns elementos da fauna.



Fig. 2. Eco-epidemiologia da leishmaniose visceral americana no Estado do Pará: 1. o parasita se mantém no ciclo enzoótico silvestre em raposas e possivelmente em outros animais por uma população silvestre do flebótomo *Lutzomyia longipalpis*; 2,3. A invasão pelo vetor das moradias localizadas na proximidade da floresta estabelece a infecção no cão e no homem. Linhas contínuas indicam a rota de transmissão definida e as linhas descontínuas representam uma possível transmissão entre outros animais silvestres, e provavelmente o homem também serve de fonte de infecção para o flebótomo (Modificado de Lainson, 1989).

As leishmanioses apresentam-se em quatro manifestações clínicas; a leishmaniose visceral (calazar) é considerada a forma mais séria das leishmanioses, e quando não tratada pode levar a morte. A leishmaniose cutânea (úlcer de Bauru, cratera da lua) é a forma mais comum da doença que se inicia com uma simples lesão na pele, que cicatriza após algumas poucas semanas ou meses, deixando, entretanto, cicatrizes de má aparência; leishmaniose mucocutânea (espúndia, nariz de anta) tem início com uma lesão simples na pele e mucosas que podem se expandir, causando hedionda destruição tissular, particularmente no nariz e na boca. A leishmaniose cutâneo-difusa produz lesões disseminadas e crônicas, chegando a lembrar lesões leprosas que são de difícil tratamento. (LUZ et al, 2001).

O calazar no homem apresenta um período de incubação de 2 a 6 meses, porém pode variar 10 dias até vários anos. É uma enfermidade de curso crônico e se não tratada a tempo pode levar a morte. Acomete, mais freqüentemente e com maior gravidade, crianças entre 4 e 10 anos de vida (VOIGT e KLEINE, 1975).

A infecção por *Leishmania* pode se manifestar de forma grave, assintomática ou com sintomas leves, dependendo do estado imunológico do hospedeiro. Os sintomas comumente observados em alguns pacientes são diarreia e sintomas de infecção intercorrente, como febres prolongadas e irregulares e aparecendo mais intenso durante o dia. A enfermidade se caracteriza por esplenomegalia e, mais tarde, por hepatomegalia, além de linfadenomegalia, anemia com leucopenia, edema, escurecimento da pele e emaciação. O abdômen pode estar protuberante devido à esplenomegalia e hepatomegalia. Frequentemente ocorrem infecções secundárias (ACHA e SZYFRES, 1989).

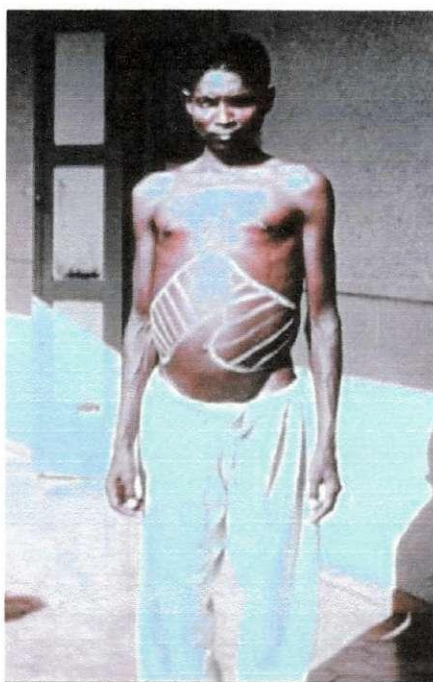


Figura 3. Homem Infectado com LVA, apresentando hepatomegalia e esplenomegalia.
Fonte:MS/SVS (2004)



Figura 4. Cão necropsiado, apresentando esplenomegalia.

O calazar nos cães domésticos apresenta características focais, como também ocorre no homem. O período de incubação pode variar de 3 a 7 meses. É uma enfermidade de gravidade variável; as lesões cutâneas são as mais freqüentes e aparentes, caracterizando-se por uma área alopecica com descamação escurecida sobre as articulações e por toda a pele. Também podem se observar pequenas ulcerações, que podem estar cobertas por crostas, na região do focinho, pavilhão auricular, dorso, ulcerações nas mucosas nasal e bucal (ACHA e SZYFRES, 1989; VOIGT e KLEINE, 1975).



Figura 5: Cão sintomático. Fonte: MS/SVS (2004)

São freqüentes a presença de conjuntivite e queratites, além do crescimento exagerado das unhas (onicogrifose). É uma doença que apresenta, na maioria das vezes, evolução crônica, sendo que na fase aguda muitos dos animais acometidos apresentam anorexia, febre recorrente, apatia, polipnéia, palidez das mucosas e emaciação. As lesões observadas na necropsia consistem em ausência de tecido adiposo,

esplenomegalia, hepatomegalia, medula óssea de consistência gelatinosa e de coloração vermelho intenso, linfadenopatia e, na maioria das vezes, ulcerações nos intestinos (VOIGT e KLEINE, 1975). No entanto, cães infectados podem permanecer aparentemente saudáveis por um período relativamente longo de tempo (LONGSTAFFE e GUY, 1986; SLAPPENDEL e GRENE, 1990 apud FRANÇA-SILVA, 1997).

Imunologicamente, os cães infectados podem seguir dois possíveis caminhos: manifestar uma doença progressiva acompanhada por altos títulos de anticorpos, com resposta celular deficiente ou apresentar uma resistência aparente acompanhada pela não detecção de anticorpos e forte imunidade. (CABRAL et al, 1992; PINELLI et al, 1994).

2.5 – Diagnóstico

É muito importante fazer o diagnóstico diferencial, devido principalmente ao grande contingente de sinais clínicos que a LVC apresenta devendo-se atentar para o diagnóstico diferencial da doença como seborréia, piodermas, dermatofitoses, dermocidioses, escabiose, atopia, enfermidades auto-imunes (lúpus eritematoso sistêmico, pênfigo foliáceo), neoplasias, hepatozoonoses, erliquiose, babesiose, tuberculose, doença do Lyme, entre outras enfermidades. (LUZ et al, 2001).

O diagnóstico clínico de cães com LV através do exame clínico é limitado e só pode ser feito quando a doença se apresenta com algumas das características citadas. (GENARO, 1993). O exame clínico, nos casos avançados, permite um diagnóstico seguro da moléstia, mas é falho em casos frustrados ou latentes e também em casos iniciais da infecção. Atualmente, esta bem estabelecido que animais assintomáticos passam despercebidos, mesmo quando examinados pelo mais experiente especialista. (GIRAUD e CABASSU, 1993; GENARO, 1993).

Os métodos usados para diagnóstico da leishmaniose visceral canina compreendem os parasitológicos, os sorológicos e os moleculares. Os métodos parasitológicos permitem a identificação direta da forma amastigota do parasito, quando proveniente de tecido animal, e na forma promastigota, a partir do cultivo e do trato digestivo de flebótomos infectados. Entre os diagnósticos, a pesquisa direta do parasito

apresenta alta especificidade (100%), no entanto a sensibilidade é baixa, em torno de 60 a 80%. Neste caso, é possível observar formas amastigotas de *Leishmania* nos esfregaços de punção aspirativa de linfonodo, especificamente o poplíteo, de medula óssea e de baço. Os esfregaços corados por giemsa, leishman ou panótico evidenciam, em microscopia de imersão (100 X), amastigotas de forma elíptica ou arredondada (3 a 4 µm), com núcleo acidofílico e cinetoplasto basofílico, no interior de macrófagos ou livres entre as células. O exame citológico de raspado de lesões ulcerativas cutâneas pode evidenciar o parasito, porém com menor frequência. O isolamento do parasito em meios especiais (NNN e RPMI) pode ser utilizado como meio de diagnóstico, porém o crescimento de promastigota é lento e sua sensibilidade é baixa, especialmente nos estágios iniciais da doença. Esse método não é aplicado na rotina diagnóstica, embora o cultivo seja um procedimento necessário para identificar e classificar as espécies de *Leishmania* (LUZ et al, 2005).

O diagnóstico também pode ser realizado através de provas sorológicas como a reação de imunofluorescência indireta (RIFI), ensaio imunoenzimático (ELISA), fixação de complemento e aglutinação direta. Nos inquéritos sorológicos em saúde pública, os exames disponíveis para diagnóstico sorológico são a RIFI e o ELISA, que expressam os níveis de anticorpos circulantes. A RIFI tem sido amplamente utilizada para diagnóstico de várias doenças parasitárias, podendo apresentar reações cruzadas principalmente com a leishmaniose tegumentar americana (LTA) e a doença de Chagas. A técnica de ELISA consiste na reação de anticorpos presentes nos soros com antígenos solúveis e purificados de *Leishmania* obtidos a partir de cultivo *in vitro* (FRANÇA-SILVA, 1997; MS / SVS, 2006).

A reação em cadeia polimerase (PCR) tem, como princípio, a amplificação de uma sequência conhecida do DNA do parasito. A extração do DNA de leishmania pode ser realizada a partir de sangue, punção de linfonodo e biópsia de pele, entre outros materiais. A sensibilidade e a especificidade são altas, em torno dos 100%. No entanto, não é um método indicado para inquérito epidemiológico por não permitir o diagnóstico de um grande número de amostras, quando comparada ao RIFI e ELISA sendo usada, principalmente, como diagnóstico confirmatório e em trabalhos de pesquisa.

A leishmaniose visceral canina, apesar da disponibilidade de inúmeros testes diagnósticos, continua representando um grande desafio para a saúde pública, pois ainda não existe um único método capaz de aliar sensibilidade e especificidade máxima, que

permita um diagnóstico preciso das diversas formas de apresentação da doença. (MS/SVS, 2006; LUZ et al, 2001).

2.6 – Tratamento e Controle

Segundo o Ministério da Saúde, o tratamento de cães acometidos por LV, não é uma medida recomendada, pois não diminui a importância do cão como reservatório do parasita. A tentativa de tratamento de leishmaniose visceral canina é feita por meio de drogas tradicionalmente empregadas no tratamento humano como, por exemplo, antimoniato de n-metilglucamina, anfotericina B, pentamidina, alopurinol, cetoconazol, fluconazol, miconazol, itaconazol tendo, no entanto, apresentando baixa eficácia. O uso rotineiro de drogas em cães induz ao desaparecimento temporário dos sinais clínicos, não prevenindo a ocorrência de recidivas, tendo efeito limitado na infectividade de flebotomíneos e possibilitam a seleção de parasitos resistentes as drogas utilizadas para o tratamento humano. (MS/SVS, 2004).

A 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 registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Essa portaria foi criada levando-se em consideração as normas do Manual de Vigilância e Controle da LVA, do Ministério da Saúde, a ausência de fármaco ou esquema terapêutico que garanta a eficácia do tratamento canino, bem como a redução do risco de transmissão, a existência de risco de cães em tratamento se manterem como reservatórios e fontes de infecção para vetor e que não há evidências científicas da redução ou interrupção da transmissão. A possibilidade da existência de risco de indução a seleção de cepas resistentes aos medicamentos disponíveis para o tratamento das leishmanioses em seres humanos e também por não existirem medidas de eficácia comprovada que garantam a não infectividade do cão em tratamento. (DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO - Portaria nº 1.426, 11 de Julho de 2008).

O controle da LVA proposto pelo Ministério da Saúde é realizado através de programas baseados em inquéritos sorológicos canino, eutanásia dos cães portadores, diagnóstico e tratamento dos casos humanos e aplicação residual de inseticida à base de cipermetrina nas áreas onde houver captura dos vetores. Essas medidas correspondem as

estratégias propostas pela Organização Mundial de Saúde (AMÓRA et al, 2006). As medidas em questão têm como finalidade diminuir a densidade populacional do vetor, identificação e eliminação dos cães infectados e identificação e tratamento das pessoas doentes (ALVES et al, 2004; JESUS et al, 2002).

As ações tomadas contra o reservatório são a identificação, o diagnóstico imediato e a eliminação destes animais, reduzindo, assim, a infecção do flebótomo. Na confirmação da presença de *L. longipalpis* em áreas de transmissão, está indicada a aplicação de inseticidas de ação residual, tanto no intradomicílio como no peridomicílio, visando à interrupção do elo de transmissão (MONTEIRO et al., 1994).

Ao longo dos anos, a execução, muitas vezes parcial, dessas ações de controle não proporcionou a desejada redução da incidência de LVA no Brasil. O controle do reservatório canino tem sido um dos temas mais controversos quanto a sua contribuição na redução da incidência da LV em humanos e cães. A ineficiência dessas ações é atribuída a baixa sensibilidade do teste de imunofluorescência indireta, agravada pelo antigo uso de papel filtro na colheita de sangue nos inquéritos sorológicos caninos, demora no retorno dos resultados, atrasando a retirada dos cães (eutanásia) sorologicamente positivos, reposição dos cães eutanasiados no âmbito das ações de controle, ausência de técnica que avalie *in locu* a infectividade dos cães em inquéritos caninos (JULIÃO et al, 2007).

Nos últimos anos, a busca por vacinas efetivas para leishmaniose visceral tem se intensificado bastante. SILVA et al (2000) foram os primeiros a avaliar as vacinas em campo, empregando o ligante de fucose manose recombinante e obtendo elevados índices de proteção contra a infecção natural por *L. chagasi*. O potencial vacinal do ligante de fucose manose foi recentemente confirmado e estendido para bloqueio da transmissão vetorial de *L. chagasi* a partir do sangue de um cão infectado (SARAIVA et al., 2006; NOGUEIRA et al., 2005).

RAMIRO et al. (2003) estudaram o desenvolvimento de uma resposta imune protetora em cães empregando a proteína LACK como imunógeno contra o desafio de promastigotas de *L. infantum*: uma proteção de 60% foi atingida. Uma proteção similar foi alcançada quando um antígeno complexo, composto de promastigotas de *L. major* autoclavadas e precipitadas com alumínio, foi empregado para vacinação, com BCG como adjuvante, e tendo como desafio a infecção natural por flebotomíneos (MOHEBALI et al., 2004).

Outros antígenos recombinantes foram ensaiados em cães e os resultados de laboratório esperam confirmação em campo (SALDARRIAGA et al., 2006; FUJIWARA et al., 2005; RAFATI et al., 2005). Em todos os casos, os antígenos provocaram, além da resposta protetora, presumivelmente celular, uma resposta humoral associada, cujo papel como adjuvante da proteção precisa ainda ser demonstrado. Até o momento, apesar da existência de fortes candidatos potenciais ao desenvolvimento de vacinas para calazar canino, a única formulação comercialmente disponível é a FML (Leishmune, Fort Dodge, <http://www.leismune.com.br>). Ainda assim, a formulação não tem como base um antígeno recombinante, mas uma fração enriquecida com a proteína NH36 que tem função de ligantes fucose manose no parasito. Esta fração, entretanto, pode conter outros antígenos, como a proteína LACK, que tem massa molecular de 36 kDa (MELO, 2006).

3 – MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Descrição da área.

O presente estudo foi realizado na zona urbana do município de Caicó, Rio Grande do Norte, Brasil, que se localiza na Microrregião do Seridó Ocidental, a latitude S 6° 27' 30" e longitude W 37° 05' 52" e ocupa uma área de 1.229 km² (2,5% do total da superfície do Estado). Os dados demográficos referentes ao ano de 2007 apresentam uma população estimada de 60.656 habitantes, com uma densidade demográfica de 46,81 (hab / km²) e um grau de urbanização de 88,91% (IBGE, 2007).

Caicó é uma das mais importantes cidades do interior do Rio Grande do Norte, conhecida especialmente como centro pecuarista. O meio rural sobrevive da agricultura familiar e da produção de leite, carne-de-sol e do queijo. A cidade vem se destacando por ser um dos maiores pólos de produção de bonés e artesanato do Brasil. Houve um rápido processo de urbanização decorrente de um grande êxodo rural causado, principalmente, pelas intensas secas na região. O município se localiza na periferia da serra da Borborema, com clima semi-árido e a temperatura média mínima e máxima variando em torno de 20,8 e 36,3°C (graus Celsius). Tem como principais vias de acesso a BR 427 (Caicó / Natal / via Jardim do Seridó), a BR 228 (Caicó / Natal / via São José do Seridó) a BR 427 (Caicó / Campina Grande / via Jardim de Piranhas) e a BR 118 (Caicó / Mossoró / via Jucurutu). A distância para Natal, capital do Estado, é de 269 km. Limita-se ao Norte com Jucurutu e Florânia, ao Sul com São João do Sabugi, Ouro Branco e Várzea (PB), a Leste com São José do Seridó, Cruzeta e Jardim do Seridó e a Oeste com Serra Negra do Norte, São Fernando e Timbaúba dos Batistas.

3.2. Determinação da Amostra

De acordo com a Secretaria Municipal de Saúde (2007), o município apresentou no censo canino de 2007, uma população de 4.743 cães na zona urbana.

A amostra foi calculada através de programa o EPI-INFO versão 6.04, baseada em uma prevalência esperada de 50%, com um erro máximo de 5%, resultou em uma amostra de 358 cães, que correspondeu a 7,5% da população canina. Baseando-se na população individual dos 25 bairros, 7,5% dos cães foram selecionados por bairro. A

visita as residências foi realizada com o apoio dos funcionários do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) de Caicó.

A seleção das residências foi feita de forma aleatória, começando sempre do centro do bairro para a periferia; e nos bairros que ficavam perto de rios, riachos ou açudes, as primeiras casas eram as próximas as áreas de risco, tomando sempre o cuidado de retirar amostras por todo o bairro de forma homogênea. As coletas eram realizadas de forma alternada (casa sim e casa não) e, quando na residência não existia cão, passava-se para a residência seguinte. Durante as visitas as residências, também foi possível a observação das características das áreas de coleta, constatando-se que a maioria dos bairros apresentavam características propícias para manutenção dos flebotomíneos e, com isso, proporcionando o aparecimento da LV. Todos os proprietários responderam a um questionário no qual constavam os seguintes dados: nome e endereço do proprietário, nome do animal, número da ficha, raça, sexo, idade, comprimento e cor do pêlo, presença ou ausência de sinais clínicos e modo de vida do animal (anexo 1).

Também foram incluídos no estudo, 70 cães do CCZ de Caicó, capturados na rua ou doados por proprietários.

3.3. Coleta das Amostras.

As coletadas foram realizadas nos meses de fevereiro e março de 2008. O sangue foi retirado da veia cefálica, após contenção do cão e antissepsia do local da punção com álcool iodado a 10%. Foram coletados, em média, 5 mL de sangue venoso, utilizando seringa e agulha descartável. O sangue foi distribuído em tubos de polipropileno de 15 mL, inclinados à 45°, em média por duas horas, para formação do coágulo. Em seguida, centrifugado por 15 minutos a 800g e o soro transferido para microtubo de 1,5 mL, identificado e congelado à -20° até a realização dos testes sorológicos.

Foi realizado também um estudo retrospectivo dos casos de leishmaniose visceral canina nos inquéritos sorológicos de 2001 a 2003, realizada pela Fundação Nacional de Saúde (FUNASA), para se obter uma comparação das prevalências dos anos anteriores com o encontrado neste trabalho.

3.4. Exames Realizados.

Os exames foram realizados no Laboratório de Biologia Molecular do Semi-árido do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da Universidade Federal de Campina Grande - PB.

O diagnóstico sorológico foi realizado através do teste ELISA S7¹, baseado no reconhecimento da proteína HSP70 recombinante por anticorpos específicos dos animais doentes. Para a realização do teste, seguiram-se as recomendações do fabricante.

Os animais reagentes na sorologia foram recolhidos de seus proprietários. Após serem anestesiados com uma associação anestésica de xilazina a 2% e ketamina, foi realizada coleta de medula óssea para isolamento do parasita. A coleta de medula óssea foi realizada através de punção aspirativa, após tricotomia e assepsia da articulação fêmuro-tíbio-fibular.

O isolamento do parasito foi realizado por cultura de medula óssea dos cães positivos em meio bifásico NNN (segundo NICOLLE, NOVY & NEAL, 1908) e BHI (Infusão de cérebro-coração) com 10% de soro fetal bovino, adicionado de penicilina e estreptomicina.

Após a coleta, os cães foram eutanasiados com cloreto de potássio a 10% por via intracardiaca.

Os 70 cães provenientes do CCZ foram submetidos ao diagnóstico pelo teste de ELISA separadamente.

¹ Biogene Ind. & Com. Ltda

4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Cães provenientes da área urbana

De acordo com os resultados do ELISA S7, dos 358 cães analisados, 18 animais foram reagentes, determinando uma prevalência estimada de 5,02%. Este dado é semelhante ao encontrado no município em 2001 (5,4%), através do teste de imunofluorescência indireta (RIFI) com coleta de sangue em papel filtro. Entretanto, bem maior do que o observado nos anos de 2002 (1,33%) e 2003 (1%), de acordo com a tabela 1.

Tabela 1: Prevalência de LVC em 2001, 2002 e 2003, realizado pela FUNASA usando o teste de RIFI, e em 2008, com o teste ELISA S7 realizado pela Secretaria de Saúde de Caicó.

Ano	Amostra	Positivos	Prevalência	Testes Sorológicos
2001	3.529	191	5,4%	RIFI
2002	2.932	39	1,33%	RIFI
2003	3.175	32	1,0%	RIFI
2008	358	18	5,02%	ELISA S7

A prevalência observada entre os bairros variou de 2,5 a 28%. Os bairros com prevalência acima de 5,02%, caracterizam-se pelas residências estarem próximas ao leito de rios, açude, de áreas recém-desmatadas ou próximas as faixas de mato fechado (mapa anexo 2), população com baixo nível sócio-econômico, com deficiência na coleta de lixo e precariedade no saneamento básico (tabela 3). Observa-se, também, que a convivência com animais domésticos é bastante elevada. Os fatores citados acima também foram observados por Monteiro et al (2005), em Minas Gerais, que se depara com a mesma realidade epidemiológica. Amóra et al (2006) relata que em Mossoró, região também endêmica no RN, houve uma diferença estatisticamente insignificante entre as áreas urbanas e rurais, 34% e 28%, respectivamente, justificada pela a urbanização da LVC e ao avanço das cidades nas áreas anteriormente rurais. Do total de 25 bairros existentes na zona urbana de Caicó, 12 bairros apresentaram pelo menos um cão soro reagente para leishmaniose visceral. A distribuição dos casos positivos de LVC

nos bairros está relacionada na tabela 2 e a distribuição pode ser observada no mapa (Anexo 2).

Tabela 2: Total da amostra, número de cães positivos e prevalência LVC, por bairro, no município de Caicó/RN.

Bairro	Total de amostras	Nº de cães positivos	Numero dos cães	Prevalência (%)
Salviano Santos	4	1	42	25
Recreio	18	2	49,60	11
Boa Passagem	32	1	89	3,0
Nova Descoberta	7	2	126, 127	28
João Paulo II	12	1	153	8,3
Paulo VI	22	1	166	4,5
Walfredo Gurgel	40	1	201	2,5
João XXIII	27	1	204	3,7
Penedo	14	2	285, 287	14
Centro	21	1	301	4,7
Paraíba	39	4	321, 346,349,351	10
Frei Damião	4	1	184	25
TOTAL	240	18	-	7,5

Tabela 3. Prevalência e características espaciais dos bairros com cães reagentes para LVC, no município de Caicó/RN.

Bairro	Prevalência (%)	CARACTERÍSTICAS ESPACIAIS
Salviano Santos	25	Bairro novo da periferia da cidade, sem pavimentação e saneamento básico precário, recém-desmatado, presença de cães na rua, população de baixa renda.
Recreio	11	Bairro de periferia, saneamento básico precário, ausência de pavimentação, área recém-desmatada, próximo ao açude Recreio, a população apresentando hábitos rurais, com criação de animais (galinhas) em seus quintais e também contato freqüente com cães.

Boa Passagem	3,0	Bairro de classe média – baixa ainda com precariedade no saneamento básico, sendo menos grave do que nos bairros citados acima, cortado pelo rio Barra Novo, próximo também a pequenos açudes e rodeado por currais de bovinos e porcos.
Nova Descoberta	28	Bairro novo, área recém-desmatada, de classe média-baixa, apresentando precariedade no saneamento básico, área sem pavimentação, próximo ao açude Itans e rodeado por currais de bovinos e porcos.
João Paulo II	8,3	Bairro novo, considerado favela, recém-desmatado, ausência de saneamento básico, possui ainda moradias de pau-a-pique, ausência de pavimento, presença de cães e população apresenta hábito rural com criação de galinhas em seus quintais.
Paulo VI	4,5	Bairro mais antigo, próximo a favela, presença de um lixão, população residente de classe media-baixa, com algumas ruas ainda sem pavimentação, saneamento básico precário, presença de cães nas ruas e de criação de animais no quintal.
Walfredo Gurgel	2,5	Bairro antigo, próximo ao leito do rio Barra Nova, apresentando precariedade no saneamento básico, área sem pavimentação, rodeado por currais de bovinos e porcos.
João XXIII	3,7	Bairro antigo, próximo ao açude Biririu, apresentando precariedade no saneamento básico, área sem pavimentação, rodeado por currais de bovinos e porcos.
Penedo	14	Bairro novo de classe média-alta, localizada em área recém-desmatada, com bastante mato nos arredores das residências, boa parte do bairro ainda sem pavimentação e saneamento básico, próximo a pequenos açudes.
Centro	4,7	Fica próximo ao leito do rio Seridó.

Paraíba	10	Bairro novo de classe média-baixa, localizado próximo a açudes e ao rio Seridó, área recém-desmatada, apresentando precariedade no saneamento básico, sem pavimentação, rodeado por currais de bovinos, a população dessa área costuma ter contato com cães e criam galinha em seus quintais.
Frei Damião	25	Bairro novo localizado na periferia da cidade, considerado favela, recém-desmatado, apresenta ausência de saneamento básico, há ainda moradias de pau-a-pique, ausência de pavimento, presença de cães e população apresenta hábito rural com criação de galinhas em seus quintais.
TOTAL	7,5	

Dos 358 cães usados nesse estudo, 207 (58%) eram machos e 151 (42%) fêmeas. Dentre os 18 cães soropositivos, 12 eram machos e 6 fêmeas (Tabela 4). A maior positividade entre os machos está relacionada à preferência da população por criar cães machos ao invés de fêmeas devido à procriação indesejada. 78% dos animais estudados viviam no peridomicílio das residências e, normalmente, o macho é usado como cão de guarda, fator que proporciona uma maior exposição ao flebótomo e à infecção, caracterizando uma predisposição ocupacional e não de gênero. Amóra et al (2006) também observou uma tendência à positividade para LV entre caninos machos devido à preferência da população em criar cães machos para guarda das residências. Portanto, não existindo comprovação de que haja uma predileção da doença em função do gênero, mas ocupacional.

Tabela 4. Número e porcentagem de cães soropositivos ao teste de ELISA, quanto ao sexo no município de Caicó/RN..

Sexo	Total da Amostra	Número e Porcentagem
Macho	207	12 / 67
Fêmea	151	6 / 33
TOTAL	358	18

Dos 358 animais estudados, 95% encontravam-se na faixa etária de 6 (seis) meses a 5 (cinco) anos de vida, enquanto que apenas 5% estavam entre 6 (seis) a 15 anos. A idade dos animais positivos variou de 8 (oito) meses a 10 anos, sendo que havia 1 (um) cão com menos de 1 ano, 12 cães entre 1 (um) a 4 (quatro) anos e 5 (cinco) cães entre 5 (cinco) a 10 anos de idade (tabela 5). A positividade mais elevada entre animais jovens está relacionada ao fato dos animais morrerem mais cedo, devido à falta de interesse e/ou falta de recursos econômicos de seus proprietários nos cuidados com a saúde de seus animais de estimação. Com isso propiciando a renovação constante da população canina, ocasionando a manutenção da infecção devido à presença constante animais susceptíveis. Por outro lado, o município, pela presença do CCZ, tem um programa de captura semanal de animais de rua, além do fato de muitos animais serem abandonados pelos proprietários no próprio órgão. No CCZ de Caicó, uma média de 120 cães são eutanasiada mensalmente. Dentre os animais eutanasiados, 40% são provenientes de abandono, na referida instituição, pelos proprietários, sempre com a justificativa de que esses se encontram doentes e que não tem condições de tratá-los ou, simplesmente, por não terem mais o interesse de mantê-los em casa. Todos estes fatores proporcionam uma maior renovação da população canina com uma ocorrência maior de animais jovens expostos a infecção.

Tabela 5. Amostra por faixa etária, número e porcentagem de cães soropositivos de acordo com a idade no município de Caicó/RN.

Faixa Etária	Total da Amostra	Número e Porcentagem
0 a 1 ano	58	1 cão / 6,25
1 a 4 anos	215	12 cães / 75
5 a 10 anos	76	5 cães / 28
10 a 20 anos	09	-
TOTAL	358	18 / 100%

No total dos animais avaliados, 15 cães apresentaram pelo menos um sintoma sugestivo de LVC, enquanto que 343 eram totalmente assintomáticos. Quanto à presença ou ausência de sintomas, entre os 18 cães positivos, 15 cães não apresentaram nenhuma sintomatologia, enquanto que apenas 3 apresentaram alguns dos sintomas característicos da doença, sendo que 2 deles só desenvolveram sinais clínicos após trinta dias da coleta de sangue para sorologia (tabela 6). Esses dados demonstram que outras patologias podem ser confundidas clinicamente com calazar e que só através de testes sorológicos ou do isolamento do parasito é que se pode confirmar a presença da enfermidade. Silva et al (2005) constata em seus estudos a ocorrência de uma maior prevalência de animais assintomáticos, corroborando com o encontrado no trabalho em questão. Os sintomas observados nos animais que desenvolveram algum sinal clínico foram, emagrecimento, unhas crescidas e ferimentos ao redor dos olhos e focinho. Observando a procedência dos cães positivos sintomáticos, os mesmos eram provenientes de bairros periféricos da cidade, de regiões próximas de rios ou açudes, viviam no peridomicílio das residências, seus donos tinham o hábito de solta-los à noite e, a maioria, não recebia os cuidados necessários para manter um bom estado de saúde.

Tabela 6. Número e porcentagem de cães soropositivos com relação à presença ou ausência de sintomatologia.

Sintomas	Total da Amostra	Número e Porcentagem
Ausentes	343	15 cães / 93,75
Presentes	15	03 cães / 16,6
TOTAL	358	18 cães /100

Quanto ao habitat, observou-se que 16 cães eram peridomiciliado, enquanto que apenas 1 cão vivia solto e também só 1 cão era domiciliado. Isto se justifica pela constante exposição dos animais no peri-domicílio à ação do vetor (tabela 7). Na literatura especializada, a ausência de sinais clínicos é sempre relatada, tornando-se quase uma regra.

Tabela 7. Número e porcentagem de cães soropositivos quanto ao tipo de habitat:

Modo de Vida	Total da Amostra	Número e Porcentagem
Peridomiciliado	280	16 / 88,8
Domiciliado	56	1 / 5,5
Solto	22	1 / 5,5
TOTAL	358	18 / 100

Em relação às raças, a sorologia foi positiva em 1 (um) Rottwailer, 1(um) Pit Bull, 1 (um) Cocker Spaniel, 3 (três) Pequinês e 12 cães não tinham raça definida (SRD).

Tabela 8. Número e porcentagem de cães soropositivos quanto à raça.

Raça	Total da Amostra	Número e Porcentagem
Sem Raça Definida	238	12
Pit Bull	12	1
Boxer	2	-
Pinche	14	-
Pequinês	52	3
Poodle	10	-
Doberman	1	-
Dalmata	3	-
Rottwailer	9	1
Pastor Alemão	7	-
Cocker Spaniel	6	1
Basset Hound	1	-
Fila Brasileiro	2	-
Labrador	1	-
TOTAL	358	18

Entre os 18 cães soro reagentes, 15 (83,3%) apresentavam pelo curto, enquanto que apenas 3 (16,6%) possuíam pelo longo (tabela 9). Este dado corrobora com os de França-Silva (1997) que sugere que há um risco relativo maior de cães com pêlo curto

contraírem a infecção do que os de pêlos longos, evidenciando pela primeira vez, que pêlos longos se constituem um fator de proteção para o cão. Provavelmente, os pêlos longos dificultam o acesso dos flebotomíneos à pele, evitando a realização do repasto sanguíneo, que pode ser feito, obviamente, em áreas menos pilosas, tais como na região genital e vômero nasal, o que vem justificar a existência de cães com pêlos longos também infectados, mas, proporcionalmente menos, que nos animais com pêlos curtos.

Tabela 9. Número e porcentagem de cães soropositivos de acordo com o comprimento do pêlo.

Comprimento do Pêlo	Total da Amostra	Número e Porcentagem
Longo	70	3 / 16,6%
Curto	288	15 / 83,3%
TOTAL	358	18 / 100%

Dos 16 amostras positivos no ELISA S7, com isolamento de *Leishmania* em meio de cultura, apenas 6 amostras apresentaram crescimento do parasito. Em duas amostras, o isolamento foi tardio, quando comparado com as demais, provavelmente, pela baixa taxa de infecção do animal.

4.2. Cães do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ)

Durante os meses de Janeiro a Março de 2008, foram coletadas 70 amostras de sangue dos cães doados e capturados pelo Centro de Controle de Zoonoses. Essas coletas foram realizadas durante a rotina de trabalho da referida instituição. As coletas eram efetuadas alguns minutos antes da realização das eutanásias. Esses animais eram animais de rua e cães doados pelos moradores desse município.

Das 70 amostras analisadas, 6 (8,5%) animais foram reagentes ao teste de ELISA S7. Essa maior prevalência entre os cães do CCZ, em relação aos cães dos bairros da cidade, se dá devido à maioria dos cães do CCZ serem animais vadios que se encontram mais expostos ao vetor e, também, por serem doados pelos donos por apresentarem algum sintoma relacionado ao calazar, sendo uma amostra viciada, mas que reflete a prevalência encontrada no município.

Das 70 amostras estudadas, 13 apresentavam pêlo longo, enquanto que 57 cães apresentavam pêlo curto, sendo que nessa amostra nenhum cão com pêlo longo foi reagentes ao teste de ELISA S7, enquanto que os 6 cães reagentes apresentavam pêlos de comprimento curto, fato esse semelhante ao encontrado na amostra retirada dos bairros da cidade, onde tanto o número da amostra quanto o número de reagente de acordo com o comprimento do pêlo mostrou-se parecida. Quanto ao fator sexo, na amostra do CCZ, 25 cães eram machos enquanto que 45 eram fêmeas, entre os 6 cães reagentes 2 eram fêmeas e 4 macho. Já na amostra dos bairros da cidade observou-se o oposto do CCZ, onde a maioria dos cães era macho, esse fato mostra a preferência da população em criar cães machos ao invés de fêmeas. Por isso o maior número de fêmeas doadas ao CCZ. Do total da amostra 16 cães apresentaram algum tipo de sinal clínico característico de LV, e destes 16 cães 2 foram reagentes, no entanto 54 cães da amostra estudada se mostraram assintomáticos para LV e desses total 4 foram reagentes ao teste sorológico. Esses dados também se assemelham ao encontrado nos bairros onde a maior parte da amostra e dos reagentes era assintomático. Quanto ao modo de vida, do total da amostra 57 viviam soltos nas ruas, os quais 5 cães foram reagentes, enquanto que 13 viviam no peridomicílio, os quais 1 cão foi reagente ao teste sorológico. Na amostra analisada, nenhum cão vivia domiciliado. No tocante ao fator raça, na população estudada, 69 cães eram sem raça definida (SRD), dos quais 6 foram reagentes, enquanto que apenas 1 cão pertencia a raça Pit Bull, mas que não foi reagente ao teste de ELISA.

Tabela 10. Número e prevalência de reagentes quanto a amostra estudada, comprimento do pêlo, sexo, sintomatologia, modo de vida e raça, dos cães provenientes do Centro de Controle de Zoonoses.

Características	Total da Amostra	Número e Porcentagem
Raça		
Pit Bull	01	-
Sem Raça Definida	69	6 / 8,7
Comprimento do Pêlo		
Pêlos longos	13	0
Pêlos Curtos	57	6
Quanto ao sexo		
Macho	25	2 / 8
Fêmea	45	4 / 8,8
Sintomatologia		
Ausência	54	4 / 7,4
Presença	16	2 / 12,5
Modo de Vida		
Domiciliado	0	0
Peridomiciliado	13	1 / 7,6
Solto	57	5 / 38,4
Não reagente	-	64 / 91,4
Reagente	-	6 / 8,57
Amostra Estudada	70	-

5 – CONCLUSÃO

- A prevalência de LVC está alta no Município de Caicó/RN e medidas de controle efetivas precisam ser realizadas pelos órgãos responsáveis pelo controle da LV do Estado e do Município para controlar a doença;
- Não há urbanização da doença, mas uma maior prevalência de casos onde o ecossistema foi alterado pelo homem ou porque vivem em área de risco.

6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

- ACHA, P.N.; SZYFRES, B. Leishmaniasis Cutanea y Visceral. **ZOONOSIS y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y a los Animales**. Publicacion Organizacion Panamericana de la Salud. 2.ed, Washington - EUA., p.615–633. 1989.
- ALENCAR, J.E. Leishmaniose visceral no Brasil. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 4, n. 3, p. 222-236, 1958.
- ALVES, W.A.; BEVILACQUA, P.D.; Reflexões sobre a qualidade do diagnóstico da leishmaniose visceral canina em inquéritos epidemiológicos: o caso da epidemia de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, 1993 – 1997. **Revista Caderno de Saúde Pública**, v.20. n.1, Rio de Janeiro, 2004.
- 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. Fatores relacionado com a positividade de cães para leishmaniose visceral em área endêmica do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Revista Ciência Rural**. v. 36, n. 6, Santa Maria, 2006.
- ASHFORD, R.W. Leishmaniasis reservoirs and their significance in control. **Clinics In Dermatology**. v.14, n.5, p.523-532, 1996.
- BOARINO, A.; SCALONE, A.; GRADONI, L. FERROGLIO, E.; VITALE, F.; ZANATTA, R.; GIUFFRIDA, M.G.; ROSATI, S.; Development of Recombinant Chimeric Antigen Expressing Immunodominant B Epitopes of *Leishmania infantum* for Serodiagnosis of Visceral Leishmaniasis. **Clinical and Diagnostic Immunology. Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Torino**. Colleretto Giacosa, Italy, p.647–653, 2005.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Departamento de Operações. Coordenadoria de Controle de Doenças Transmitidas por Vetores. Gerência Técnica de Calazar. Controle, Diagnóstico e Tratamento da Leishmaniose Visceral (Calazar) – Normas Técnicas. 1.ed. – Brasília: **Fundação Nacional de Saúde**, 1994. 103 p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. Série A. Normas Técnicas. Brasília: **Ministério da Saúde**; 2004. 120p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. (Série A. Normas e Manuais Técnicos). Brasília: Editora do **Ministério da Saúde**; 2006. 60p.
- CABRAL, M.; O'GRADY, J.; ALEXANDER, J. Demonstration of *Leishmania* specific cell mediated and humoral immunity in asymptomatic dogs. **Parasitic. Immunol**. v.14, p.531-539, 1992.

CASTRO, A. G. et al. Controle, diagnóstico e tratamento da leishmaniose visceral (calazar). Brasília: **Fundação Nacional de Saúde**, 1996. 86 p.

CESSE, E.A.P. **Expansão e Urbanização da Leishmaniose Visceral: Estudo Epidemiológico do Processo de Transmissão Ativa em Área Urbana – Petrolina – PE, 1991-1997**. Tese de Mestrado. (Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Aggeu Magalhães – Departamento de Saúde Coletiva) Recife – PE – Brasil, 1999. p.150.

COSTA, C.H.N.; PEREIRA, H.F.; ARAÚJO, M.V. Epidemia de leishmaniose visceral no estado do Piauí, Brasil, 1980-1986. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v.24, n.5, p. 361-372, out, 1990.

COSTA, J.M.L.; VIANA, G.M.C.; SALDANHA, A.C.R. Leishmaniose visceral no Estado do Maranhão, Brasil: a evolução de uma epidemia. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 11, n.2, p. 321-324, abr./jun, 1995.

CUNHA, A.M. e CHAGAS, E. Estudo sobre o parasito. Leishmaniose Visceral Americana, nova entidade mórbida do homem na América do Sul. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**. v.32, p.329-337, 1937.

DEANE, L.M.; DEANE, M.P. Observações preliminares sobre a importância comparativa do homem, do cão e da raposa (*Lycalopex vetulus*) como reservatório da *Leishmania donovani* em área endêmica do calazar no Ceará. **O Hospital**, p.61-76, 1955.

BRASIL. Portaria Interministerial nº 1.426, 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. Imprensa Nacional. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministério.

DIETZE, R.; BARROS, G.B.; TEIXEIRA, L.; HARRIS, J.; MICHELSON, K.; FALQUETO, A.; COREY, R. **Effect of Eliminating Seropositive Canines on the Transmission of Visceral Leishmaniasis in Brazil**. Núcleo de Doenças Infecciosas da Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, Brasil; and the Division of Infectious Diseases, Duke University Medical Center, Durham, North Carolina, USA. 1997.

DUPREY, Z.H., STEURER, F.J., ROONEY, J.A., KIRCHHOFF, L.V., † JACKSON, J.E. ‡ ROWTON, E.D. † SCHANTZ, P.M. Canine Visceral Leishmaniasis, United States and Canada 2000–2003, **Emerging Infectious Diseases**, v. 12, n. 3, March, 2006.

FERRO, C.; MORRISON, A.C.; TORRES, M. Species composition and relative abundance of sand flies of the genus *Lutzomyia* (Diptera: *Psychodidae*) at an endemic focus of visceral leishmaniasis in Colombia. **J. Med. Entomol**, v. 32, n.4, p.527-37,1995.

FRANÇA-SILVA, J.C. **Leishmaniose Visceral Canina no Município de Montes Claros, Minas Gerais, Brasil**. Tese de Mestrado. (Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais), Brasil, p.131, 1997.

FUJIWARA RT, VALE AM, FRANCA DA SILVA JC, DA COSTA RT, QUETZ JDA S, MARTINS FILHO OA, REIS AB, CORREA OLIVEIRA R, MACHADO-COELHO GL, BUENO LL, BETHONY JM, FRANK G, NASCIMENTO E, GENARO O, MAYRINK W, REED S, CAMPOS-NETO A. Immunogenicity in dogs of three recombinant antigens (TSA, LeIF and LmSTI1) potential vaccine candidates for canine visceral leishmaniasis. *Vet Res*, v. 36, n. 5-6, p.827-38, 2005.

GAMA, M.E.A.; BARBOSA, J.S.; PIRES, B.; CUNHA, A.K.B.; FREITAS, A.R.; RIBEIRO, I.R.; COSTA, J.M.L.; Avaliação do nível de conhecimento que populações residentes em áreas endêmicas têm sobre leishmaniose visceral no Estado do Maranhão, Brasil. *Caderno de Saúde Pública*. v.14, n.2, 1998.

GALLATI, E.A.B.; NUNES, V.L.B.; RÊGO Jr., F.A.; OSHIRO, E.T; CHANG, M.R. Estudo de flebotímíneos (Diptera: Psychodidae) em focos de leishmaniose visceral no Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. *Revista de Saúde Pública*. v.31, p.378-391, 1997.

GENARO, O. **Leishmaniose visceral canina experimental**. Tese de Doutorado (Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais), Brasil, p.202. 1993.

GENARO, O. et al. Ocorrência de calazar em área urbana da grande Belo Horizonte. MG. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 23, p. 121, 1989.

GENARO, O.; MARQUES, M.J.; REIS, A.B.; SILVA, A.L.F.F.; MICHALICK, M.S.M.; COSTA, C.A.; MAYRING, W.; DIAS, M. **Leishmaniose Visceral Americana**. In: Neves, D. P. *Parasitologia Humana*, 10.ed. Atheneu, p.56-72, 2000.

GIRAUD, P.; CABASSU, H. Le Chien est Il Le reservoir de vírus de La leishmaniose interne. *Aech. Med. Gen. Colon*. v.2, p.23-27, 1993.

GONÇALVES, A.J.R.; ROZEMBAUM, R.; CUNHA, R.Q. et al. Calazar: relato de três pacientes adultos internados no HSE/INAMPS (RJ). Considerações sobre esta endemia de grande importância no nosso território. *Arq. Bras. de Med*. v.60, n. 5, p.369-376, 1986

JESUS, A.D.; SANTOS, A.S.P.O.; POTTKER, F., BRAUNA, J.R.; MOREIRA, M.M.; PIMENTEL, S.G.; ALVES, R.R.; BRAGA, C. Aspectos Epidemiológicos da Leishmaniose Visceral Canina. **Centro de Desenvolvimento do Centro-Oeste**, Goiás, Brasil, p. 1 – 8;

JULIÃO, F.S.; SOUZA, B.M.P.S; FREITAS, D.S.; OLIVEIRA, L.S.; LARANJEIRA, D.F.; DIAS-LIMA, A.G.; SOUZA, V.M.M.; BARROUIN-MELO, S.M.; JUNIOR, E.D.M.; PAULE, B.J.A.; FRANKE, C.R. Investigação De Áreas De Risco Como metodologia complementar ao controle da leishmaniose visceral canina. *Revista Pesquisa Veterinária Brasileira*,. v.27, n.8, p. 319-324, 2007.

LAINSON, R.; SHAW, J.J. **Evolution, classification and geographical distribution**. In: PETERS & KILLICK-DENDRICK. *The Leishmaniasis in Biology and Medicine*; London, Academic Press, v.1, p.1-20. 1987.

LAINSON R., RANGEL E.F. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil – A Review. **Mem Inst Oswaldo Cruz**; v.100, n.8, p.811-827, 2005.

LEITE, G. Leishmaniose visceral - 1º parte: proêmio, histórico e epidemiologia. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 15, n. 9, p. 665-610, 1958.

LONGTAFTE, J.A & GUY, M.W. Leishmaniasis in dog. **Vet Annu**, v.25, p.358-367. 1986.

LUZ, K. G; RIBEIRO, V. M.; SOUSA, C. B. P.; LUVIZOTTO, M. C. R.; SBARDELINI, I. M. E.; PARRA, L.; PAPA, T.; Leishmaniose Visceral Canina. **Manual Técnico de Leishmaniose Visceral Canina – LEISHMUNE**, Campinas, SP, p. 08 – 29, 2005.

LUZ, Z.M.P.; PIMENTA, D.N.; CABRAL, A.L.L.V.; FIÚZA, V.O.P.; RABELLO, A. A Urbanização das leishmanioses e a baixa resolutividade diagnóstica em municípios da Região Metropolitana de Belo Horizonte. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v.3, n.3, 2001.

MARZOCHI, M.C. de A.; SABROZA, P.C.; TOLEDO, L.M. et al. Leishmaniose visceral na cidade do Rio de Janeiro - Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 1, n. 1, p. 5-17, 1985.b.

MARZOCHI, M.C.A. **A Leishmaniose Tegumentar no Brasil**. In: **Grandes Endemias Brasileiras**, Universidade de Brasília. Brasília – Brasil. 1989.

MELO, M.A. **Isolamento de Clones Imunoreativos e Caracterização *in silico* de novos antígenos recombinantes de *Leishmania chagasi***. Tese de Doutorado. (Instituto Oswaldo Cruz, Biologia Parasitária), Rio de Janeiro - Brasil, 2006. p.156.

MOHEBALI M, KHAMESIPOUR A, MOBEDI I, ZAREI Z, HASHEMI-FESHARKI R. Double-blind randomized efficacy field trial of alum precipitated autoclaved *Leishmania* major vaccine mixed with BCG against canine visceral leishmaniasis in Meshkin-Shahr district, I.R.Iran. **Vaccine**, v. 28, n. 22, p. 4097-100, 2004.

MOLANO I, ALONSO MG, MIRON C, REDONDO E, REQUENA JM, SOTO M, NIETO CG, ALONSO C. A *Leishmania infantum* multi-component antigenic protein mixed with live BCG confers protection to dogs experimentally infected with *L. infantum*. **Vet Immunol Immunopathol**, v. 20, n. 92, p. 1-13, 2003.

MONTEIRO, E.M.; SILVA, J.C.F.; COSTA, R.T.; COSTA, D.C.; BARATA, R.A.; PAULA, R.T.; MACHADO-COELHO, G.L.L.; ROCHA, M.F.; FORTES-DIAS, C.L.; DIAS, E.S. Leishmaniose visceral: estudo de flebotômicos e infecção canina em Montes Claros, Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v.38, n.2, p.147-152. 2005.

MONTEIRO, P.S., LACERDA, M.M. e ARIAS, J.R. Controle da Leishmaniose Visceral no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 27, supl. 3, p.67-72, 1994.

MOHEBALI M, KHAMESIPOUR A, MOBEDI I, ZAREI Z, HASHEMI-FESHARKI R. Double-blind randomized efficacy field trial of alum precipitated autoclaved *Leishmania major* vaccine mixed with BCG against canine visceral leishmaniasis in Meshkin-Shahr district, I.R.Iran. **Vaccine**, v. 28, n. 22, p. 4097-100, 2004.

MORENO, J.; ALVAR, J. Canine leishmaniasis: epidemiological risk and the experimental model. **Trends Parasitol.** v.18, p.399-405, 2002.

MORRISON, A.C.; FERRO, C.; PARDO, R. Seasonal abundance of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) at an endemic focus of visceral leishmaniasis in Colombia. **J. Med. Entomol.**, v.32, n.4, p. 538-548, 1995.

NASCIMENTO, M. do D.S.B.; COSTA, J.M.L.; FIORI, B.I.P. Aspectos epidemiológicos determinantes na manutenção da leishmaniose visceral no estado do Maranhão - Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 29, n. 3, p. 219-228, 1996.

NICOLE, C. Nouvelles acquisitions sur le kala-azar: Cultures inoculations au chien, étiologi. **C.R.Hebd. Séances et I^o Acad. Sci.** v.146, p.498-499, 1908.

NOGUEIRA F.S, MOREIRA M.A, BORJA-CABRERA G.P, SANTOS F.N, MENZ I, PARRA L.E., XU Z., CHU H.J., PALATNIK-DE-SOUSA C.B., LUVIZOTTO M.C. Leishmune vaccine blocks the transmission of canine visceral leishmaniasis: absence of *Leishmania* parasites in blood, skin and lymph nodes of vaccinated exposed dogs. **Vaccine**, v. 23, n. 40, p. 4805-10, 2005.

OLIVEIRA, H. Epidemiologia do Calazar. **Revista Brasileira de Medicina**, v.17, n.1, p.56-58, 1960.

PESSÔA, S.B. **Parasitologia Médica**. 7. ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 1967. Cap.15, p. 161-184.

PINELLI, E. Cellular and humoral immune responses in dog experimentally infected with *Leishmania infantum*. **Infection Immunity**. v.62, n.1, p.229-235, 1994

RAFATI S, NAKHAE A, TAHERI T, TASLIMI Y, DARABI H, ERAVANI D, SANOS S, KAYE P, TAGHIKHANI M, JAMSHIDI S, RAD MA. Protective vaccination against experimental canine visceral leishmaniasis using a combination of DNA and protein immunization with cysteine proteinases type I and II of *L. infantum*. **Vaccine**, v. 23, n. 28, p.3716-25, 2005

RAMIRO MJ, ZARATE JJ, HANKE T, RODRIGUEZ D, RODRIGUEZ JR, ESTEBAN M, LUCIENTES J, CASTILLO JA, LARRAGA V. Protection in dogs against visceral leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* is achieved by immunization with a heterologous prime-boost regime using DNA and vaccinia recombinant vectors expressing LACK. **Vaccine**, v. 2, n. 21, p.2474-84, 2003.

ROSÁRIO, E.Y.; GENARO, O.; SILVA, J.C.F.; COSTA, R.T.; MAYRINK, W.; REIS, A.B.; CAENEIRO, M. Evolution of enzyme-linked immunosorbent assay using crude *Leishmania* and recombinant antigens as a diagnostic marker for canine visceral leishmaniasis. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.**, v.100, n. 2, p.197-203, 2005.

SARAIVA E.M.; DE FIGUEIREDO BARBOSA A.; SANTOS, F.N.; BORJA-CABRERA, G.P.; NICO, D.; SOUZA, L.O.; DE OLIVEIRA MENDES-AGUIAR, C.; DE SOUZA, E.P.; FAMPA, P.; PARRA, L.E.; MENZ, I.; DIAS JG, J.R.; DE OLIVEIRA, S.M.; PALATNIK-DE-SOUSA, C.B. The FML-vaccine (Leishmune) against canine visceral leishmaniasis: a transmission blocking vaccine. **Vaccine**, v.24, n.13, p.2423-31, 2006.

TESH, R.B. Control of zoonotic visceral leishmaniasis: is it time to change strategies? **Am j. trop. Med Hyg.**, v. 52, n.3, p. 287-292. 1995.

SALDARRIAGA OA, TRAVI BL, PARK W, PEREZ LE, MELBY PC. Immunogenicity of a multicomponent DNA vaccine against visceral leishmaniasis in dogs. **Vaccine**, v. 24, n. 11, p.1928-40, 2006.

SILVA VO, BORJA-CABRERA GP, CORREIA PONTES NN, SOUZA EP, LUZ KG, PALATNIK M, PALATNIK DE SOUSA CB. A phase III trial of efficacy of the FML-vaccine against canine kala-azar in an endemic area of Brazil (São Gonçalo do Amaranto, RN). **Vaccine**; v. 8, n. 19, p. 1082-92, 2000.

SILVA, A.V.M.; PAULA, A.A.; CABRERA, M.A.A.; CARREIRA, J.C.A. Leishmaniose em Cães Domésticos: Aspectos Epidemiológicos. **Caderno de Saúde Pública**, v. 21, n. 1, p.324-328, 2005.

SLAPPENDEL, A.J.; GREENE, C.E. **Leishmaniasis In: Infectious diseases of the dog and cat**, Ed. Greene CE, p.769-777. WB Saunders Co., Philadelphia, P.A; 1990.

TRAVI, B.L. Bionomies of *Lutzomyia evansi* (Diptera: psychodidae) vector of visceral leishmaniasis in northern Colombia. **J. Med. Entomol**, v.33, p.278-285. 1996.

VOIGT, A.; KLEINE, F.D. **Leishmaniosis Visceral y Cutanea, Kala-Azar o Botón de Oriente**. ZONOSIS, Descripción Sinóptica Orientativa. Editorial Acribia. Zaragoza – España, p.257-259. 1975.

WHO. Lucha contra las leishmaniasis. Série Informe Técnico. v.793. p.177; Genebra, 1996.

ANEXOS

Anexo 1. Questionário epidemiológico empregado nas vistas para coleta das amostras para exame de leishmaniose visceral canina.

PREFEITURA MUNICIPAL DE CAICÓ
SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE
CENTRO DE CONTROLE DE ZONÓSES
FICHA DE IDENTIFICAÇÃO
(COLETA DE MATERIAL PARA EXAME DE LESHMANIOSE)

PROPRIETÁRIO

ENDEREÇO

ANIMAL (FICHA Nº)

NOME DO ANIMAL

SEXO

RAÇA

PELAGEM

COR DA PELAGEM

PORTE

IDADE

MODO DE VIDA:

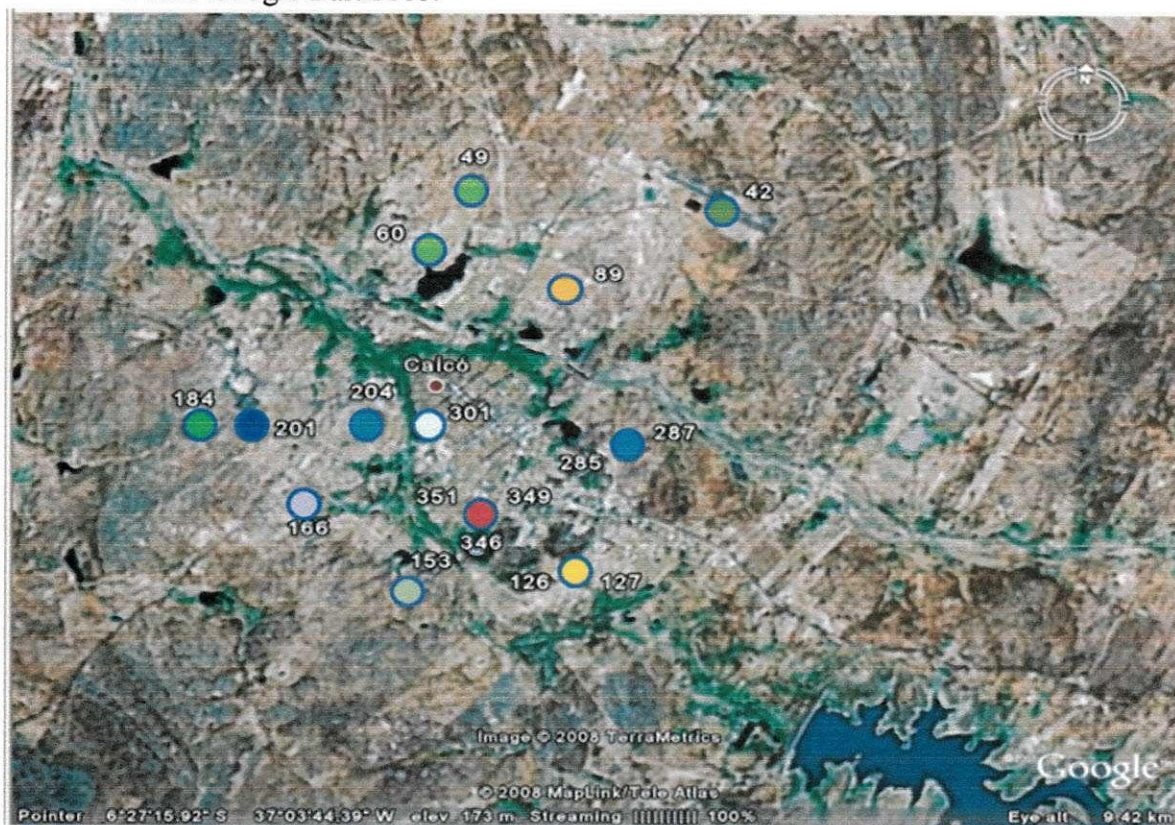
DOMICILIADO **PERIDOMICILIADO** **SOLTO**

SINTOMATOLOGIA: **SIM** **NÃO**

EUTANÁSIA: **SIM** **NÃO**

NECROPSIA (MATERIAIS COLETADOS)

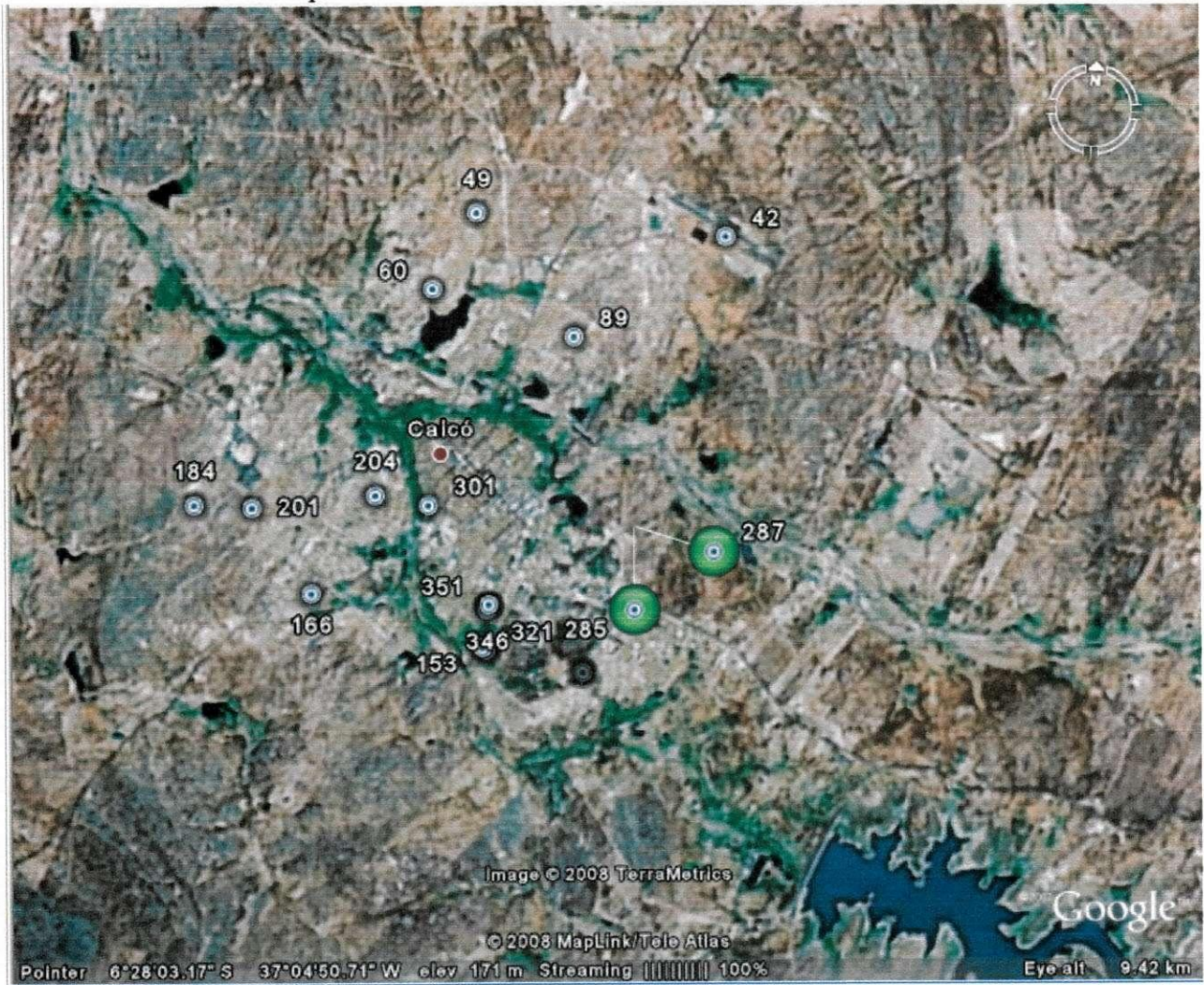
Anexo 2. Mapa apresentando vista por satélite do Município de Caicó.
 Fonte Google Earth Pro.



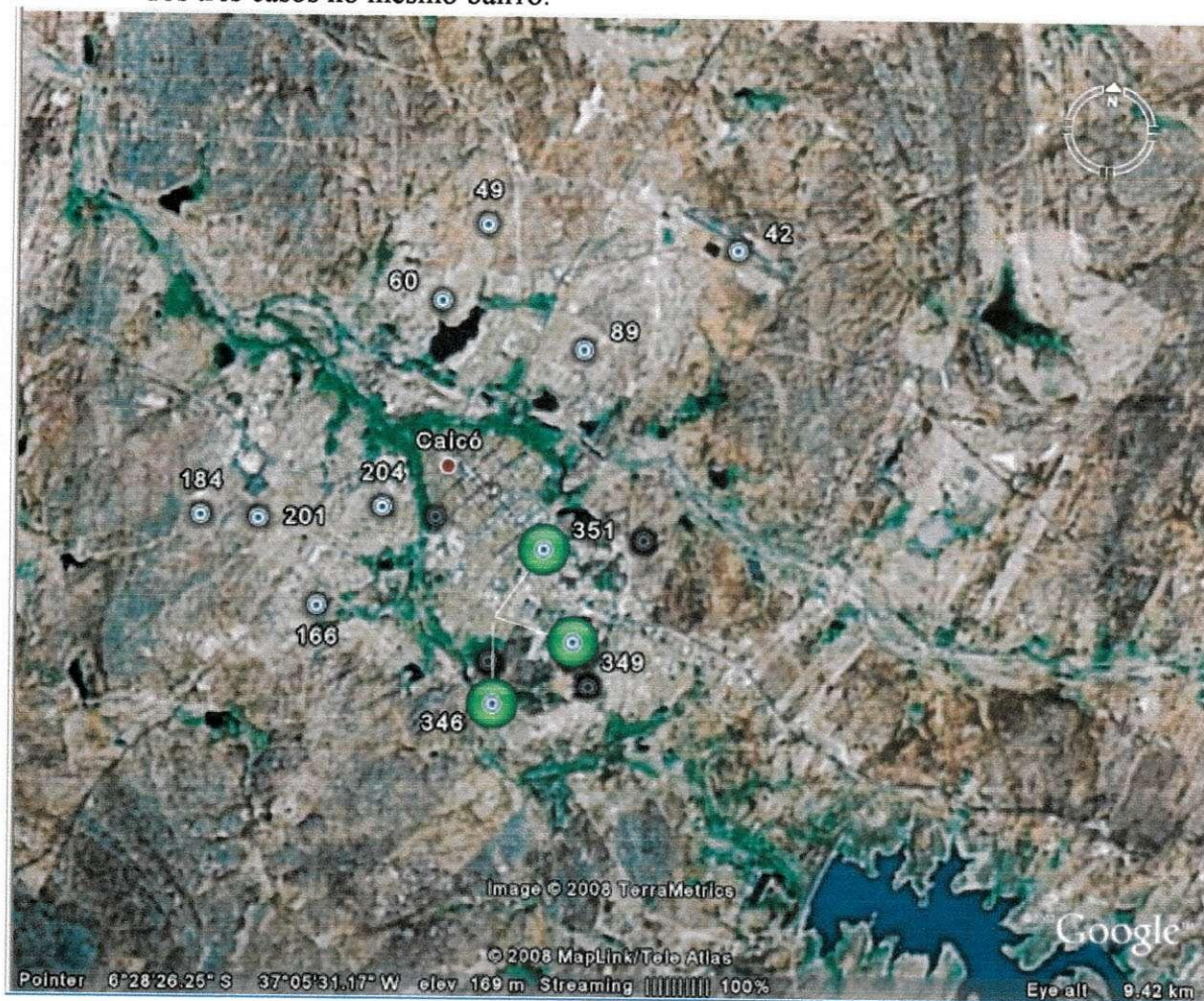
Nova Descoberta	28%
Salviano Santos	25%
Frei Damião	25%
Penedo	14%
Recreio	11%

Paraíba	
João Paulo II	
Centro	
Paulo VI	
João XXIII	
Boa Passagem	3,0%
Walfredo Gurgel	2,5%

Anexo 3. Mapa apresentado distribuição de cães soropositivos distinguindo dois casos em residências próximas.



Anexo 4. Mapa apresentado distribuição de cães soropositivos mostrando a localização dos três casos no mesmo bairro.



Anexo 5. Mapa apresentado distribuição de cães soropositivos mostrando a localização dos dois casos na mesma casa.

