



Universidade Federal
de Campina Grande

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
CAMPUS DE PATOS – PB

CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DE ZOONOSES EM CÃES NO
ESTADO DA PARAÍBA

ANNIELLE REGINA DA FONSÊCA FERNANDES

Patos – PB

2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
CAMPUS DE PATOS – PB

CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DE ZOONOSES EM CÃES NO
ESTADO DA PARAÍBA

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande – Campus de Patos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor

ANNIELLE REGINA DA FONSÊCA FERNANDES

Doutoranda

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Santos Azevedo

Patos – PB

Novembro de 2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSTR

F363c

Fernandes, Annielle Regina da Fonseca

Caracterização epidemiológica de zoonoses em cães no estado da Paraíba / Annielle Regina da Fonseca Fernandes. – Patos, 2016.
94f.: il.

Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2016.

“Orientação: Prof. Dr. Sérgio Santos de Azevedo”

Referências.

1. Cães. 2. Zoonoses. 3. Soroprevalência. 4. Fatores de risco.
5. Nordeste do Brasil. I. Título.

CDU 614.9

**CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DE ZOOSE EM CÃES NO
ESTADO DA PARAÍBA**

Annielle Regina da Fonsêca Fernandes

Aprovada em 29/11/2016.

BANCA EXAMINADORA



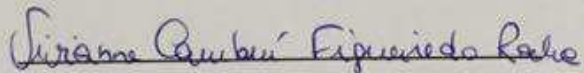
Prof. Dr. Sérgio Santos de Azevedo
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG – Patos/PB
(Orientador)



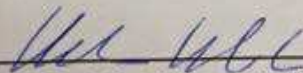
Prof. Dr. Severino Silvano dos Santos Higino
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG – Patos/PB



Prof. Dr. Vinícius Longo Ribeiro Vilela
Instituto Federal da Paraíba – IFPB Campus de Sousa/PB



Dra. Vivianne Cambuí Figueiredo Rocha
Instituto Federal da Paraíba – IFPB Campus de Sousa/PB



Prof. Dr. Wilson Wouflan Silva
Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas/CSTR/UFCG – Patos/PB

PATOS

2016

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço à Deus, pelo dom da vida e por me permitir concluir mais essa etapa.

Aos meus pais Hélia e Ademir, exemplos de família, por todo o amor e educação que sempre buscaram me dar.

Ao meu namorado Ramon por todo carinho e compreensão.

Às minhas tias Ademilde e Elma por todo companheirismo de sempre.

Às minhas colegas de convivência e primas Tuérpia e Thaissa pelas lágrimas e risadas compartilhadas e por cuidaram tão bem de mim nesses últimos meses.

Aos amigos de hoje e de sempre Juliana, Vitor, Bel, e Larysse pela força que sempre me deram, que nossa amizade vença todas as distâncias.

Ao meu orientador, prof. Dr. Sérgio Santos Azevedo, pela confiança depositada em mim desde a Iniciação Científica, por todos os ensinamentos e oportunidades.

Aos colegas do Laboratório de Doenças Transmissíveis especialmente Carla, Diego, Camila, Leíse, Davidianne, Aline, Érico, Arthur e dona Francinete por toda a ajuda prestada e pelos bons momentos de convivência.

À professora Dr^a Marcia Almeida Melo do Laboratório de Biologia Molecular do Semi-árido e sua orientada Raizza Barros por toda atenção e prestatividade.

Ao prof. Dr. Hélio Langoni e toda sua equipe do Núcleo de Pesquisa em Zoonoses, Gabriela, Raissa, Samea, Talita, Noelle, Gisele, Giullia e Joeleni por toda a acolhida e ensinamentos.

Ao prof. Dr. Rinaldo Mota e sua equipe do Laboratório de Doenças Infectocontagiosas dos Animais Domésticos especialmente seu orientado Muller por toda a amizade e conhecimentos compartilhados.

Ao farmacêutico bioquímico Huarandir Nunes e à biomédica Mariana Santiago pela realização das coletas de sangue nos humanos.

Ao Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária (PPGMV) e ao secretário Jonas Alves de Oliveira por todo apoio para com todos os discentes.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de doutorado.

A todos os proprietários que consentiram as colheitas de sangue e a seus animais, que mesmo sem saberem contribuíram significativamente para esta pesquisa. Enfim, a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Esta tese é composta por três capítulos. Nos Capítulos I e II foram determinadas as soroprevalências e os fatores de risco para as infecções por *Leishmania* spp., *Trypanosoma cruzi*, *Leptospira* spp., *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em cães do Estado da Paraíba, Nordeste do Brasil. Foram amostrados 1.043 soros de cães procedentes de cinco centros urbanos considerados polos regionais. As soroprevalências para as infecções foram de 7,8% (IC 95% = 6,1-9,4%), 7,9% (IC 95% = 6,3-9,6%), 9,3% (IC 95% = 7,5-11,1%), 22,1% (IC 95% = 19,6-24,7%) e 7,7% (IC 95% = 6,1-9,3%), respectivamente. Criação semidomiciliar (OR = 2,044), criação solta (OR = 4,151), ambiente de terra (OR = 3,425) e ambiente de terra/cimento (OR = 3,065) foram apontados como fatores de risco para *Leishmania* spp., e criação semidomiciliar (OR = 2,353), criação solta (OR = 3,454) e contato com bovinos (OR = 2,015) para *T. cruzi*. Idade > 48 meses (OR = 2,92), raça não definida (OR = 1,94) e criação com acesso à rua (OR = 1,57) foram apontados como fatores de risco para infecção por *Leptospira* spp. Para toxoplasmose, idade > 48 meses (OR = 1,74), alimentação com comida caseira (OR = 2,24), alimentação com ração e comida caseira (OR = 2,34) e contato com gatos (OR = 1,57) foram consideradas fatores de risco, enquanto que a criação com acesso à rua (OR = 2,62) foi fator de risco para *N. caninum*. No Capítulo III foi investigada a ocorrência de anticorpos contra *Leishmania* spp., *T. cruzi*, *T. gondii* e *Leptospira* spp. em cães e proprietários de um município paraibano com casos humanos de leishmaniose visceral e toxoplasmose registrados nos últimos anos. Amostras de soro de 200 cães e 23 proprietários, contactantes aos cães soropositivos, foram submetidas ao diagnóstico sorológico. Foram obtidas frequências de 6%, 7,5%, 18% e 14% para *Leishmania* spp., *T. cruzi*, *T. gondii* e *Leptospira* spp., respectivamente, bem como anticorpos anti-*T. gondii* também foram encontrados nos proprietários. Conclui-se que os cães da área de estudo estão expostos às infecções por *Leishmania* spp., *T. cruzi*, *Leptospira* spp., *T. gondii* e *N. caninum*, evidenciadas pela detecção de anticorpos, o que sugere revisão e intensificação das medidas de controle através do constante monitoramento da população canina e correção dos fatores de risco identificados.

Palavras-chave: cães, zoonoses, soroprevalência, fatores de risco, proprietários, Nordeste do Brasil.

ABSTRACT

This thesis is composed by three Chapters. In Chapters I and II the seroprevalences and risk factors associated with *Leishmania* spp., *Trypanosoma cruzi*, *Leptospira* spp., *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* were determined in dogs from Paraiba state, northeastern Brazil. A total of 1,043 sera were sampled from dogs from five urban centers considered as regional poles. Seroprevalences for the infections were, respectively, 7.8% (95% CI = 6.1-9.4%), 7.9% (95% CI = 6.3-9.6%), 9.3% (95% CI = 7.5-11.1%), 22.1% (95% CI = 19.6-24.7%) and 7.7% (95% CI = 6.1-9.3%), respectively. Semi-domiciled housing (OR = 2.044), free housing (OR = 4.151), and soil (OR = 3.425) and soil/cement (OR = 3.065) environmental conditions were identified as risk factors for *Leishmania* spp., and semi-domiciled (OR = 2.353) or free housing (OR = 3.454), and contact with bovine (OR = 2.015) for *T. cruzi*. Age > 48 months (OR = 2.92), mixed breed (OR = 1.94) and access to street (OR = 1.57) were identified as risk factors for *Leptospira* spp. infection. For toxoplasmosis, age > 48 months (OR = 1.74), homemade food (OR = 2.24), comercial and homemade food (OR = 2.34) and contact with cats (OR = 1.57) were considered risk factors, while access to street (OR = 2.62) was risk fator for *N. caninum*. In Chapter III the occurrence of anti-*Leishmania* spp., *T. cruzi*, *T. gondii* and *Leptospira* spp. antibodies was investigated in dogs and owners from a paraiban county with human cases of visceral leishmaniasis and toxoplasmosis in recent years. Serum samples from 200 dogs and 23 owners were submitted to serological diagnosis, and frequencies of 6%, 7.5%, 18% and 14% were found to *Leishmania* spp., *T. cruzi*, *T. gondii* and *Leptospira* spp., respectively, as well as anti-*T. gondii* antibodies were also found in owners. We conclude that dogs from the study area are exposed to *Leishmania* spp., *T. cruzi*, *Leptospira* spp., *T. gondii* and *N. caninum* infections, evidenced by antibody detection, suggesting the need for revisiting and intensification of disease control measures through constant monitoring of the canine population and correction of the identified risk factors.

Key words: dogs, zoonoses, seroprevalence, risk factors, owners, Northeastern Brazil

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS E QUADROS.....	07
LISTA DE FIGURAS.....	08
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	09
2. REFERÊNCIAS.....	10
3. CAPÍTULO I - Risk factors associated with seropositivity for <i>Leishmania</i> spp. and <i>Trypanosoma cruzi</i> in dogs in the state of Paraíba, Brazil.....	11
3.1. Abstract.....	12
3.2. Resumo.....	13
3.3. Introduction.....	13
3.4. Materials and Methods.....	15
3.5. Results.....	18
3.6. Discussion.....	19
3.7. References.....	22
4. CAPÍTULO II - Soroprevalência e fatores de risco para leptospirose, toxoplasmose e neosporose na população canina do estado da Paraíba, nordeste do Brasil.....	32
4.1. Abstract.....	33
4.2. Resumo.....	34
4.3. Introdução.....	35
4.4. Material e Métodos.....	37
4.5. Resultados.....	39
4.6. Discussão.....	40
4.7. Conclusões.....	46
4.8. Referências.....	46
5. CAPÍTULO III - Occurrence and risk factors of zoonoses in dogs and owners in the sertão of Paraíba, northeastern Brazil (<i>Short communication</i>)...	59
5.1 Abstract.....	60
5.2 References.....	65
6. CONCLUSÕES.....	70
ANEXOS.....	71

LISTA DE TABELAS E QUADROS

CAPÍTULO I

Table 1.	Seropositivity for visceral leishmaniasis, Chagas disease and both diseases in dogs in the period from January 2013 to June 2014, in the State of Paraíba, Brazil.....	28
Table 2.	Univariable analysis for risk factors associated with the seropositivity for visceral leishmaniasis and Chagas disease in dogs in the period from January 2013 to June 2014, in the State of Paraíba, Brazil.....	29
Table 3.	Risk factors associated with the seropositivity for visceral leishmaniasis and Chagas disease in dogs in the period from January 2013 to June 2014, in the State of Paraíba, Brazil.....	31

CAPÍTULO II

Quadro 1.	Soropositividade para leptospirose, toxoplasmose e neosporose em cães do Estado da Paraíba, entre janeiro de 2013 a dezembro de 2014, no Estado da Paraíba.....	54
Quadro 2.	Análise univariável dos fatores de risco associados à soropositividade para toxoplasmose, neosporose e leptospirose em 1.043 cães no período de janeiro de 2013 a dezembro de 2014, no Estado da Paraíba.....	55
Quadro 3.	Fatores de risco associados com a soropositividade para toxoplasmose, neosporose e leptospirose em 1.043 cães no período de janeiro de 2013 a dezembro de 2014, no Estado da Paraíba.....	57

CAPÍTULO III

Table 1.	Univariate analysis of the risk factors associated with seropositivity visceral leishmaniasis, Chagas disease, toxoplasmosis and leptospirosis in 200 dogs from December 2014 to October 2015, in Sertão of Paraíba, Brazil.....	67
Table 2.	Risk factors associated with seropositivity for visceral leishmaniasis, Chagas disease, toxoplasmosis and leptospirosis in 200 dogs from December 2014 to October 2015, in Sertão of Paraíba, Brazil.....	69

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figure 1. Geographical distribution of counties used. Detail shows the State of Paraíba within Brazil..... 31

CAPÍTULO II

- Figura 1. Distribuição geográfica dos municípios utilizados. A localização da Paraíba dentro do Brasil é mostrada no detalhe..... 58

1. INTRODUÇÃO GERAL

Os cães estão cada vez mais inseridos na sociedade, ocupando lugares especiais dentro do ambiente familiar. Além da companhia para crianças, idosos ou para toda a família, podem desempenhar funções como cães-guia, cães de guarda ou cães policiais (MINHARRO et al. 2005). Essa crescente importância conferida pela sociedade faz com que grande atenção deva ser voltada para a sanidade desses animais, especialmente no que diz respeito àquelas doenças naturalmente transmissíveis entre animais e seres humanos, as zoonoses.

Em muitos casos, quando portadores de algumas dessas enfermidades, os animais encontram-se aparentemente sadios, tornando-se importantes fontes de infecção, especialmente pelo contato estreito e prolongado com seres humanos. Essa relação cão/ser humano, ao longo dos anos, garantiu que doenças consideradas importantes em regiões tropicais como a leishmaniose visceral, doença de Chagas, leptospirose, toxoplasmose e neosporose se tornassem objeto de atenção e investigação (COIRO et al. 2011). Vale salientar que casos de neosporose em humanos não são relatados, mas alguns trabalhos evidenciaram a ocorrência de anticorpos contra o parasito em pacientes com HIV (LOBATO et al. 2006).

Estudar tais infecções na espécie canina torna-se importante para que se possa avaliar o grau de disseminação das mesmas em uma determinada comunidade, desta forma, esta espécie acaba assumindo o papel de sentinela sendo fundamentais para avaliação do risco para a saúde humana. De acordo com De Nardo (1997), a utilização de animais sentinela como indicadores de problemas em saúde pública resultam na obtenção de informações importantes, além da identificação de áreas endêmicas, fatores ambientais de risco, doenças emergentes e reemergentes, assim como perigo de novos surtos de algumas doenças.

O monitoramento e o controle de zoonoses por meio de inquéritos soropidemiológicos para cada localização geográfica se fazem necessários, pois proporcionam aos órgãos responsáveis, subsídios para a estruturação e o direcionamento de novas políticas públicas, visando o fortalecimento da saúde pública em geral.

Esta Tese de Doutorado é composta por três capítulos constituídos por artigos científicos originais. O Capítulo I é referente a um artigo científico publicado na Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária - Qualis B1, e descreve as soroprevalências e os

fatores de risco para as infecções por *Leishmania* spp. e *Trypanosoma cruzi* em cães de cinco centros urbanos do Estado da Paraíba, no Nordeste brasileiro. O Capítulo II é composto por um artigo submetido à revista Pesquisa Veterinária Brasileira - Qualis A2, no qual foram avaliadas as soroprevalências e os fatores de risco para as infecções por *Leptospira* spp., *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em cães do Estado da Paraíba, Nordeste do Brasil. O Capítulo III compreende uma comunicação científica submetida à Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical - Qualis B1, na qual foi investigada a ocorrência de anticorpos contra *Leishmania* spp., *T. cruzi*, *T. gondii* e *Leptospira* spp. em cães e proprietários de um município paraibano com casos humanos de leishmaniose visceral e toxoplasmose nos últimos anos.

2. REFERÊNCIAS

COIRO, C. J.; LANGONI, H.; SILVA, R. C.; ULLMANN, L. S. Fatores de risco para leptospirose, leishmaniose, neosporose e toxoplasmose em cães domiciliados e peridomiciliados em Botucatu-SP. **Veterinária e Zootecnia**, v.18, n.3, p.393-407, 2011.

DE NARDO, P. Veterinary environmental epidemiology the case of respiratory pathology in the dog. **Annali dell Istituto Superiore di Sanita**, v.33, n.4, p.587-593, 1997.

LOBATO, J.; SILVA, D. A. O.; MINEO, T. W. P.; AMARAL, J. D. H. F.; SILVA SEGUNDO, G. R.; COSTA-CRUZ, J. M.; FERREIRA, M. S.; BORGES, A. S.; MINEO J. R. Detection of immunoglobulin G antibodies to *Neospora caninum* in humans: high seropositivity rates in patients who are infected by human immunodeficiency virus or have neurological disorders. **Clinical and Vaccine Immunology**, v.13, n.1, p. 84-89, 2006.

MINHARRO, S.; COTTORELLO, A. C. P.; MIRANDA, K. L.; STYNEN, A. P. R., ALVES, T. M., LAGE, A. P. Diagnóstico da brucelose canina: dificuldades e estratégias. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.29, n.3/4, p.167-173, 2005.

3. CAPÍTULO I

**FATORES DE RISCO ASSOCIADOS ÀS SOROPOSITIVIDADES PARA
Leishmania SPP. E *Trypanosoma cruzi* EM CÃES NO ESTADO DA PARAÍBA,
BRASIL**

“Risk factors associated with seropositivity for *Leishmania* spp. and *Trypanosoma cruzi*
in dogs in the state of Paraíba, Brazil”

Trabalho publicado na Revista
Brasileira de Parasitologia
Veterinária, Jaboticabal – SP.
Qualis B1-JCR 0,961.

Risk factors associated with seropositivity for *Leishmania* spp. and *Trypanosoma cruzi* in dogs in the state of Paraíba, Brazil

Fatores de risco associados às soropositividades para *Leishmania* spp. e *Trypanosoma cruzi* em cães no Estado da Paraíba, Brasil

Annielle Regina da Fonseca Fernandes¹; Carla Lauise Rodrigues Menezes Pimenta¹; Ivana Fernandes Vidal¹; Gabriela Capriogli Oliveira²; Raissa Saran Sartori²; Raizza Barros Araújo³; Márcia Almeida Melo³; Hélio Langoni²; Sérgio Santos Azevedo^{1*}

¹ Laboratório de Doenças Transmissíveis, Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Patos, PB, Brasil

² Laboratório de Zoonoses, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Botucatu, SP, Brasil

³ Laboratório de Biologia Molecular do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Patos, PB, Brasil

Received January 19, 2016

Accepted February 16, 2016

Abstract

The aim of this survey was to determine the seropositivity and risk factors for *Leishmania* spp. and *Trypanosoma cruzi* in dogs in the State of Paraíba, Northeastern Brazil. A total of 1,043 dogs were tested, and the serological diagnoses of Chagas disease (CD) and canine visceral leishmaniasis (CVL) was performed by the indirect fluorescent antibody test (IFAT). Animals that tested seropositive for both diseases (by IFAT) were further subjected to ELISA. Of the 1,043 dogs 81 (7.8%; 95% CI = 6.1-9.4%) tested seropositive for *Leishmania* spp., while 83 were seropositive for *T. cruzi* (7.9%; 95% CI = 6.3-9.6%). Simultaneous serological reactions were detected in 49 animals (4.6%; 95% CI= 3.6-6.2%). Semi-domiciled housing (OR = 2.044), free housing (OR = 4.151), and soil (OR = 3.425) and soil/cement (OR = 3.065) environmental conditions were identified as risk factors for CVL seropositivity. The risk factors identified for CD seropositivity were semi-domiciled (OR = 2.353) or free housing (OR = 3.454), and contact with bovine (OR

= 2.015). This study revealed the presence of dogs in the Paraíba State seropositive for CVL and CD, suggesting the need for revisiting and intensification of disease control measures through constant monitoring of the canine population.

Keywords: Dogs, *Leishmania infantum*, *Trypanosoma cruzi*, risk factors, Northeastern region of Brazil.

Resumo

O objetivo do presente trabalho foi determinar a soropositividade para *Leishmania* spp. e *Trypanosoma cruzi* em cães do Estado da Paraíba, Nordeste do Brasil, bem como identificar fatores de risco. Foram utilizados 1.043 cães e, para o diagnóstico sorológico de doença de Chagas (DC) e leishmaniose visceral canina (LVC), foi utilizada a reação de imunofluorescência indireta (RIFI). Animais positivos para ambas as doenças (pela RIFI) foram submetidos ao ELISA. Dos 1.043 cães investigados, 81 foram soropositivos para *Leishmania* spp., resultando em prevalência de 7,8% (IC 95% = 6,1-9,4%) e, para *T. cruzi*, 83 (7,9%; IC 95% = 6,3-9,6%) animais foram soropositivos. Quarenta e nove animais (4,6%; IC 95% = 3,6-6,2%) apresentaram sororeatividade mista. Criação semidomiciliar (OR = 2,044), criação solta (OR = 4,151), ambiente de terra (OR = 3,425) e ambiente de terra/cimento (OR = 3,065) foram apontados como fatores de risco para LVC, e criação semidomiciliar (OR = 2,353), criação solta (OR = 3,454) e contato com bovinos (OR = 2,015) para DC. Conclui-se que LVC e DC estão presentes em cães do Estado da Paraíba, o que sugere revisão e intensificação das medidas de controle através do constante monitoramento da população canina.

Palavras-chave: Cães, *Leishmania infantum*, *Trypanosoma cruzi*, fatores de risco, Nordeste do Brasil.

Introduction

The zoonoses visceral leishmaniasis (VL) and Chagas disease (CD) have been known to significantly affect human health in Brazil, prompting the need for repeated medical assistance. These diseases are caused by the protozoans *Leishmania infantum* and *Trypanosoma cruzi*, respectively; both are known to be carried by hematophagous

insect (*Lutzomyia* spp. and *Triatoma* spp.) vectors. Wild and domesticated canids have been identified as the reservoirs of these parasites (SIMÕES-MATTOS et al., 2005; LUCIANO et al., 2009).

Canine visceral leishmaniasis (CVL) is an important zoonosis, which is associated with rapid geographical expansion. This disease has been observed in 47 countries, and is caused by specie *Leishmania (L.) infantum* (KUHLS et al., 2011). The disease is widely distributed throughout Brazil, and presents specific geographical, climatic, and social characteristics. CVL, which was mostly diagnosed in rural areas in the past, has recently migrated to medium and large urban areas, which has led to changes in its epidemiological profile. In Brazil, CVL occurs in the central-western, southeastern, northern, and northeastern regions, however, the majority of cases have been reported in northeastern region (BRASIL, 2006).

Dogs are the major domestic reservoirs of VL, and play a major role in maintaining the disease cycle (MELO, 2004). Their relevance is attributed to the greater prevalence of VL in the canine than in the human population, since infections in humans are often preceded by infections in dogs. Furthermore, dogs carry a greater number of parasites on their skin than humans, which favors the infection of the vectors (CASTRO, 1996; SANTA ROSA & OLIVEIRA, 1997; BANETH, 2006).

CD, also known as American trypanosomiasis, is a major public health concern in several countries around the world (BORCHHARDT et al., 2010). According to the World Health Organization (WHO), over 6 million people from 21 countries are estimated to be infected with CD, with an annual incidence of 100,000 to 200,000 cases (WHO, 2015). With regard to Brazil, it is estimated that the number of infected individuals is around of three million, and this zoonotic disease is present in the list of neglected tropical diseases (DIAS, 2011). Despite the main reservoirs of CD being wild species, cats and dogs are known to get infected by the causative protozoan; this plays an important role in the ecology and epidemiology of this disease (GÜRTLER et al., 2007). The natural infection of dogs by *T. cruzi* occurs in a manner similar to human infections, occurring either through active transmission by the vector, or through contamination of the skin and/or conjunctiva by infected feces. However, Barr (2006) stated that the transmission frequently occurs through the ingestion of infected vectors or infected tissues from rodents or other wild animals found in around shelters/residences.

The phylogenetic proximity between the parasites, and the fact that both diseases are endemic to some regions of South America, necessitate the analysis of the two infections in parallel. These zoonoses must be monitored and controlled through surveys that combine serological and epidemiological approaches for each geographical location, as these strategies can lead to the allocation of specific funds that will allow policy-makers to organize and direct new policies towards strengthening public health as a whole.

The aforementioned reasons, the effect of CVL and CD on public health, the role of dogs as parasite reservoirs, and the scarce evidence-based data available in the State of Paraíba, have motivated this study, which aims to determine the seropositive and associated risk factors for *Leishmania* spp. and *T. cruzi* in the canine population of this region.

Materials and Methods

Ethics Committee

This work was approved by the Ethics Committee on Animal Use (CEUA/CESED), Faculty of Medical Sciences of Campina Grande-FCM, under the code 0041/280314.

Samples

Dogs older than three months were included in this study; the test subjects were identified by visiting the residences of their owners, and from those admitted to veterinary clinics and analysis laboratories. Animals from the João Pessoa, Campina Grande, Patos, Sousa, and Cajazeiras counties (Figure 1), five regional urban centers in the State of Paraíba situated along one of the major highways (BR-230; also known as the Trans-Amazonian highway), were included in this study. The sample size was determined according to the total population of dogs (141,863 animals) in these counties (6,843 dogs in Sousa, 10,553 in Patos, 78,073 in João Pessoa, 6,103 in Cajazeiras, and 40,291 in Campina Grande). These numbers were estimated based on human population data for the year 2013, provided by the Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE, 2013). The dog/human distribution in urban areas was calculated at a ratio of 1:10 (WHO, 1990; REICHMANN et al., 1999). The sample size was determined for each county based

on an estimated seropositivity of 50% (value adopted for sample maximization), a confidence level of 95%, and an error of 10% (THRUSFIELD, 2007); this provided the required sample size of at least 96 animals per county. Ultimately, 1,043 animals were included in this study (125 dogs in Sousa, 206 in Patos, 338 in João Pessoa, 125 in Cajazeiras, and 249 in Campina Grande).

Probabilistic criteria were not established for animal selection, i.e., inclusion of the animals depended on previous contact with the owners and their agreement to taking part in the study. Blood samples were collected from the external jugular or cephalic veins using 5 mL disposable syringes, in the period from January 2013 to June 2014; the serum samples were stored at -20°C until serological tests.

Serology

Serum antibodies for both diseases were searched by indirect fluorescent antibody test (IFAT), using the protocol by Camargo (1966); the samples were diluted as follows: 1:40, 1:80, 1:160, 1:320, and 1:640. The antigen used to coat the slides for CVL diagnosis was prepared from *L. major*-like promastigotes, whereas the antigen for CD was prepared from *T. cruzi* (strain Y) epimastigotes; both cultures were maintained in LIT (Liver Infusion Triptose) and NNN (Neal, Novy, Nicolle) culture media. Positive and negative control sera, for both parasites, were provided by the Núcleo de Pesquisa em Zoonoses (NUPEZO), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Botucatu – SP. Based on the results obtained for the controls, the final antibody titer was determined to correspond to the highest dilution of the sera; under these conditions, the membranes of at least 50% of the promastigotes (CVL) and epimastigotes (CD) emitted readable fluorescence, with a cutoff of 40 or higher.

Animals that tested seropositive for both parasites (by IFAT) were further subjected to enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using the ELISA S7® kit (Biogene Indústria & Comercio Ltda ME, Recife-PE, Brazil) for the serological diagnosis of CVL. ELISA was performed as per the manufacturer protocols in order to minimize cross-reactivity and accurately detect possible co-infections.

Serum samples that showed positive results at the 1:40 or higher dilutions by IFAT, and which were also determined to be reactive by ELISA, were established to be positive for *Leishmania* spp. Dogs were determined to be positive for *T. cruzi* when

results from the 1:40 or higher serum dilutions were detected by IFAT. Simultaneous serological reactions were diagnosed when the animal was seropositive for both parasites.

Epidemiological questionnaires

During the collection of blood samples from the dogs, their owners were also provided with an epidemiological questionnaire. This questionnaire requested information regarding a series of variables, in order to investigate certain behaviors and conditions that could act as risk factors for CVL and CD. The variables analyzed and respective categories were as follow:

- Owner's information: county of origin (Sousa, Patos, João Pessoa, Cajazeiras, Campina Grande), level of education (illiterate, 1st degree, 2nd degree, 3th degree), and traveling with the dog (yes, no);

- Animal's information: gender (male, female), age (≤ 12 months, 13-48 months, 49-72 months, > 72 months), breed (undefined, defined), conditions of housing (domiciled environment [dogs without access to streets], semi-domiciled [dogs with restricted access to streets], free [dogs with unrestricted access to streets]), and dog food (commercial, homemade, homemade meals, a combination of commercial and homemade, a combination of commercial and homemade meals);

- Environment's information: contact with other dogs (yes, no), contact with bovine (yes, no), contact with horses (yes, no), contact with cats (yes, no), contact with goat/sheep (yes, no), contact with pigs (yes, no), contact with wild animals (yes, no), environmental conditions (soil, cement, soil and cement), environmental hygiene (yes, no), presence of rodents (yes, no), and access to water dams (yes, no).

Risk factor analysis

The risk factors were analyzed from the data obtained by the epidemiological questionnaires, using univariable approaches. Two groups of animals, seropositive and seronegative dogs, were formed for univariable analysis; these were compared with the tested variables. Variables with $p \leq 0.2$, determined by the chi-square or Fisher's exact tests (ZAR, 1999), were selected for multivariable analysis, using multiple logistic regression (HOSMER & LEMESHOW, 2000). The significance level considered to discarding a determined variable was 5%. The collinearity among independent variables was assessed using correlation analysis, and when two variables were highly collinear

(correlation coefficient > 0.90), only one variable was likely to enter into analysis. In such situations, selection of which collinear variable to put into the model was guided by biological plausibility (DOHOO et al., 1997). The tests were performed using the SPSS software package, version 13.0 for Windows (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA).

Results

Of the 1,043 dogs included in the study, 81 tested seropositive for *Leishmania* spp. (7.8%; 95%CI = 6.1-9.4%). The following antibody titers were detected: 38 (46.9%), 15 (18.5%), 11 (13.5%), 8 (9.8%), and 9 (11.1%) dogs had titers of 40, 80, 160, 320, and 640, respectively. Eighty-three (7.9%; 95% CI = 6.3-9.6%) dogs tested seropositive for *T. cruzi*; forty-five (54.2%) animals displayed antibodies at a serum titer of 40, while 12 (14.4%), 9 (10.8%), 10 (12%), and 7 (8.4%) displayed antibodies at titers of 80, 160, 320 and 640, respectively. Simultaneous serological reactions were detected in 49 (4.6%; 95% CI = 3.6-6.2%) dogs. Table 1 shows the distribution of seropositive animals according to the county of origin.

Univariable analysis (Table 2) of the risk factors for CVL seropositivity ($p \leq 0.2$) focused on the following variables: county of origin ($p < 0.001$), level of education of the owner ($p = 0.055$), breed ($p < 0.001$), conditions of housing ($p < 0.001$), dog food ($p < 0.001$), contact with other dogs ($p < 0.001$), contact with bovine ($p < 0.001$), contact with cats ($p < 0.001$), contact with goat/sheep ($p < 0.001$), contact with wild animals ($p < 0.001$), environmental conditions ($p < 0.001$), environmental hygiene ($p = 0.001$), traveling with the dog ($p = 0.047$), presence of rodents ($p = 0.138$), and access to water dams ($p < 0.001$). Semi-domiciled housing (OR = 2.044), free housing (OR = 4.151), and soil (OR = 3.425) and soil/cement (OR = 3.065) environmental conditions were identified as risk factors for CVL seropositivity in the logistic regression analysis (Table 3).

Univariable analysis (Table 2) of the risk factors for CD seropositivity ($p \leq 0.2$) focused on the following variables: county of origin ($p < 0.001$), level of education of the owner ($p = 0.043$), age ($p = 0.194$), breed ($p < 0.004$), housing conditions ($p < 0.001$), dog food ($p = 0.056$), contact with other dogs ($p = 0.002$), contact with bovine ($p < 0.001$), contact with cats ($p = 0.001$), contact with goat/sheep ($p < 0.001$), contact with wild animals ($p < 0.006$), environmental conditions ($p = 0.009$), environmental hygiene ($p = 0.025$), and access to water dams ($p < 0.001$). Logistic regression identified the

following risk factors (Table 3): semi-domiciled (OR = 2.353) or free housing (OR = 3.454), and contact with bovine (OR = 2.015).

Discussion

Several surveys have been conducted in Brazil with the aim of establishing the prevalence of CVL; these studies have produced variable results depending on the characteristics of the study population and the methods used. Alves et al. (1998), Martins (2008), and Barboza et al. (2009), who conducted studies in Fortaleza, CE, Maceió, AL, and Salvador, BA, observed disease frequencies of 1.59%, 1.9%, and 0.7%, respectively; these disease frequencies were lower than the ones reported in this study. In contrast, similar disease frequency was reported by Azevedo et al. (2008) in a survey conducted in Poxoréo, MT (7.8%). The highest disease frequencies were identified by Matos et al. (2006) in animals admitted to the UFERSA veterinary hospital, Mossoró, RN (28%); in addition, Amora et al. (2006), observed very high disease frequencies of 45% and 34% in rural and urban areas of Mossoró, RN, respectively, while Abreu-Silva et al. (2008), Almeida et al. (2012), and Morais et al. (2013) observed high disease frequencies in São Luiz, MA (51.6%), Cuiabá, MT (22.1%), and Araguaína, TO (51.35%), respectively. However, it should be emphasized that a majority of these studies were conducted in single locations, whereas the current study focused on five different urban hubs in the State of Paraíba, which could explain the differences in seropositivity. Rondon et al. (2008) reported that the distribution of CVL frequency suggested a seasonal variation, which was caused by the high and low peaks of the vector population, which could justify the variability of data for CVL prevalence throughout Brazil.

Paraíba is an endemic region for CVL, and according to the SINAN Health Information System (Sistema de Informação de Agravos de Notificação), 162 cases of human visceral leishmaniasis have been recorded between 2007 and 2013 (BRASIL, 2014) in Paraíba. Therefore, the measures developed for the control of CVL and VL must be revisited by the responsible policy-makers to facilitate constant monitoring of the canine population for the presence of anti-*L. chagasi* antibodies, in order to prevent transmission to humans.

It should be highlighted that the criterion adopted for positive serological results in this study (IFAT associated with ELISA, instead of IFAT alone) may have influenced

the results. Because of the controversy and the fact that many owners are reluctant to euthanize their animals, since the adoption of that measure has no sufficient effectiveness in reducing the prevalence of cases of the disease, there is the need to carry out more than one test for the confirmatory diagnosis of this disease as well as a standardization of diagnostic techniques to be used both in surveys and in individual cases. This question becomes even more delicate when many of the animals are asymptomatic.

The housing conditions of the dogs, particularly semi-domiciled and free environments, have previously been identified as risk factors for *L. chagasi* infection by Oliveira & Araújo (2003), Amora et al. (2006), and Naveda et al. (2006), in Feira de Santana, BA, Mossoró, RN, and Pedro Leopoldo, MG, respectively; these studies have strongly suggested the greater exposure of free animals to the vector. These results are also in agreement with the results obtained by Uchôa et al. (2001), who reported that the lack of organized human occupation (proximity to hillsides and/or forest areas) caused an environmental imbalance that favored the occurrence of disease cycle outside the forests, and closer to the urban areas. The variables related to the environmental conditions (soil, soil/cement), also identified as risk factors for CVL, suggested that a strong presence of organic materials contributes to the proliferation of synanthropic species, in addition to creating a favorable habitat for the spread of the vector (as eggs are usually laid on organic materials).

For DC, 7.9% of the animals were seropositive for *T. cruzi*. This value differs from that (22.7%) described by Souza et al. (2009), which analyzed the seroprevalence of *T. cruzi* infection in dogs from Mato Grosso do Sul using IFAT and ELISA. Mendes et al. (2013) found a prevalence of 4.08% using IFAT, ELISA and indirect hemagglutination (IHA), in Patos, PB. The higher frequencies could probably be attributed to the predominantly rural survey areas, which are the usual ecotopes of disease vectors. Silva & Fernandes (2013) utilized IFAT and ELISA and identified a prevalence for CD of 31% in domiciled dogs in São Domingos do Capim, PA. Silva et al. (2014) used IFAT to detect a CD prevalence of 22.2% in a rural area of Bragança, PA. These values, which are higher than the ones reported in this study, could be attributed to the prior instances of human CD infections in both locations. Despite the low positivity reported in this study, the general population and the authorities must be alerted to the presence of infectious agents, in order to plan and establish epidemiological strategies for the effective control of CD.

The housing conditions of the dogs, particularly semi-domiciled and free environments, have also been identified as risk factors for *T. cruzi*. This is a reason for concern; despite the major vector for this disease (*Triatoma infestans*) being no longer responsible for CD infections in Brazil (ARGOLO et al., 2008), other species could contribute to its spread in the country. *Triatoma* sp. insects are currently migrating to urban areas, and have contributed to the strengthening of the disease cycle outside the forest (and closer to urban areas), thereby infecting dogs (especially the ones in free environments) and humans. Contact with bovine is another risk factor for CD. Many wild and domestic mammals are known reservoirs of CD; although dogs are the major domestic reservoir for human infection, other animals can also contribute to CD ecology (DIAS & COURA, 1997). Furthermore, it is usual the occurrence of bovine roaming free in many urban areas of the State of Paraíba. Dias et al. (2000) have reported the decades-old existence of peri-urban disease foci, and have suggested that the constant migration from rural to urban areas, and the poverty and semi-rural characteristics of the periphery neighborhoods determine disease distribution.

According to the criteria established in this study, 4.6% (49/1043) of the dogs tested positive (by IFAT assay) for *Leishmania* spp. and *T. cruzi*, possibly indicating the occurrence of mixed (simultaneous) infections (UMEZAWA & SILVEIRA, 1999). These results corroborate that ones obtained by Luciano et al. (2009), who observed intense cross-reactions following higher differences in dog serum titers (tested by IFAT) for *Leishmania* spp. and *T. cruzi* antigens. It must be highlighted that the remaining *T. cruzi* titers varied between 40 and 640. In contrast, Souza et al. (2009) mentioned the difficulties in discriminating between infections by *T. cruzi* and *Leishmania* spp. in asymptomatic dogs using conventional diagnostic techniques. Several South American locations are endemic to CVL and CD, with a high possibility of mixed infections. Morais et al. (2013) have also observed the simultaneous infection of canines by *L. chagasi* and *T. cruzi* in Araguaína, TO; of the 111 samples tested 57 were observed to be positive (IFAT and ELISA) for CVL (51.35%). The same sera were also analyzed by TESA-blot, which suggested the possibility of CD infection in five animals (4.5%); among these, 3 tested ELISA-positive and IFAT-negative for leishmaniasis.

In conclusion, seropositive animals for *Leishmania* spp. and *T. cruzi* were detected in the canine population in the State of Paraíba, suggesting the need for revisiting and intensification of disease control measures through constant monitoring by the competent

authorities. Based on the identified risk factors for CVL and CD, we propose the observation of certain measures when allowing dogs on the streets; in addition, the environmental and housing conditions that the dogs are subjected must be improved. Contact with bovine was identified as risk factor for CD, which emphasizes the need for future studies on the role of this species in the transmission cycle of the disease.

References

Abreu-Silva AL, Lima TB, Macedo AA, Moraes-Júnior FJ, Dias EL, Batista ZS, et al. Soroprevalência, aspectos clínicos e bioquímicos da infecção por *Leishmania* em cães naturalmente infectados e fauna de flebotomíneos em uma área endêmica na ilha de São Luís, Maranhão, Brasil. *Rev Bras Parasitol Vet* 2008; 17(Suppl 1): 197-203. PMID:20059848.

Almeida ABPF, Sousa VRF, Cruz FACS, Dahroug MAA, Figueiredo FB, Madeira MF. Canine visceral leishmaniasis: seroprevalence and risk factors in Cuiabá, Mato Grosso, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 2012; 21(4): 359-365. <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612012005000005>. PMID:23184322.

Alves AL, Bevilaqua CML, Moraes NB, Franco SO. Levantamento epidemiológico da leishmaniose visceral em cães vadios da cidade de Fortaleza, Ceará. *Ciênc Anim* 1998; 8(2): 63-68.

Amóra SSA, Santos MJP, Alves ND, Costa SCG, Calabrese KS, Monteiro AJ, et al. Fatores relacionados com a positividade de cães para leishmaniose visceral em área endêmica do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. *Cienc Rural* 2006; 36(6): 1854-1859. <http://dx.doi.org/10.1590/S010384782006000600029>.

Argolo AM, Felix M, Pacheco R, Costa J. Doença de Chagas e seus principais vetores no Brasil. Rio de Janeiro: Imperial Novo Milênio/ Fundação Oswaldo Cruz; 2008.

Azevedo MA, Dias AKK, Paula HB, Perri SHV, Nunes CM. Avaliação da leishmaniose visceral canina em Poxoréo, Estado do Mato Grosso, Brasil. *Rev Bras Parasitol Vet* 2008; 17(3): 123-127. PMID:19245756.

Baneth G. Leishmaniasis. In: Greene CE. *Infectious diseases of the dog and cat*. 3th ed. Saint Louis: Saunders Elsevier; 2006. p. 685-698.

Barboza DCPM, Leal DC, Souza BMPS, Carneiro AJB, Gomes Neto CMB, Alcântara AC, 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.

Barr SC. American trypanosomiasis. In: Greene CE. *Infectious diseases of the dog and cat*. 3th ed. Philadelphia: WB Saunders; 2006. p. 676-680.

Borchhardt DM, Mascarello A, Chiaradia LD, Nunes RJ, Oliva G, Yunes RA, et al. Biochemical evaluation of a series of synthetic chalcone and hydrazide derivatives as novel inhibitors of cruzain from *Trypanosoma cruzi*. *J Braz Chem Soc* 2010; 21(1): 142-150. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-50532010000100021>.

Brasil. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. *Manual de vigilância e controle da Leishmaniose Visceral* [online]. Brasília; 2006. Série A: Normas e manuais Técnicos [cited 2006 Oct 30]. Available from: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmaniose_visceral.pdf

Brasil. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. *Casos confirmados de Leishmaniose Visceral, Brasil, grandes regiões e unidades federadas 1990 a 2013* [online]. Brasília; 2014 [cited 2014 Mar 27]. Available from: <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/leia-mais-o-ministerio/726secretaria-svs/vigilancia-de-a-a-z/leishmaniose-visceral-lv/11334-situacaoepidemiologica-dados>.

Camargo ME. Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of American trypanosomiasis: technical modification employing preserved culture forms of *Trypanosome cruzi* in a slide test. *Rev Inst Med Trop* 1966; 8(5): 227-235. PMID:4967348.

Castro AG. *Controle, diagnóstico e tratamento da leishmaniose visceral (calazar): normas técnicas*. Brasília: Fundação Nacional de Saúde; 1996.

Dias JCP, Coura JR. Epidemiologia. In: Dias JCP, Coura JR. *Clínica e terapêutica da Doença de Chagas: uma abordagem prática para o clínico geral*. Rio de Janeiro: Fiocruz; 1997. p. 33-65.

Dias JCP, Machado EMM, Fernandes AL, Vinhaes MC. Esboço geral e perspectivas da Doença de Chagas no Nordeste do Brasil. *Cad Saude Publica* 2000; 16(Suppl 2): 13-34. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102311X2000000800003>. PMID:11119317.

Dias JCP. Os primórdios do controle da doença de Chagas (em homenagem a Emmanuel Dias, pioneiro do controle, no centenário de seu nascimento). *Rev Soc Bras Med Trop* 2011; 44(Suppl 2): 12-18. [http:// dx.doi.org/10.1590/S0037-86822011000800003](http://dx.doi.org/10.1590/S0037-86822011000800003). PMID:21584352.

Dohoo IR, Ducrot C, Fourichon C, Donald A, Hurnik D. An overview of techniques for dealing with large numbers of independent variables in epidemiologic studies. *Prev Vet Med* 1997; 29(3): 221-239. [http://dx.doi.org/10.1016/S0167-5877\(96\)01074-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0167-5877(96)01074-4). PMID:9234406.

Gürtler RE, Cecere MC, Lauricella MA, Cardinal MV, Kitron U, Cohen JE. Domestic dogs and cats as sources of *Trypanosoma cruzi* infection in rural northwestern Argentina. *Parasitology* 2007; 134(1): 69-82. [http:// dx.doi.org/10.1017/S0031182006001259](http://dx.doi.org/10.1017/S0031182006001259). PMID:17032467.

Hosmer DW, Lemeshow S. *Applied logistic regression*. New York: John Wiley & Sons; 2000. <http://dx.doi.org/10.1002/0471722146>.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. *Estimativas da população residente nos municípios brasileiros com data de referência em 1º de julho de 2013* [online]. Brasília: IBGE; 2013 [cited 2015 Oct 10]. Available from: ftp://ftp.ibge.gov.br/Estimativas_de_Populacao/Estimativas_2013/nota_metodologica_2013.pdf.

Kuhls K, Alam MZ, Cupolillo E, Ferreira GEM, Mauricio IL, Oddone R, et al. Comparative microsatellite typing of new world *Leishmania infantum* reveals low heterogeneity among populations and its recent old world origin. *PLoS Negl Trop Dis* 2011; 5(6): e1155. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0001155>. PMID:21666787.

Luciano RM, Lucheis SB, Troncarelli MZ, Luciano DM, Langoni H. Avaliação da reatividade cruzada entre antígenos de *Leishmania* spp e *Trypanosoma cruzi* na resposta sorológica de cães pela técnica de imunofluorescência indireta (RIFI). *Braz J Vet Res Anim Sci* 2009; 46(3): 181-187.

Martins IV. *Aspectos epidemiológicos e de hemostasia na leishmaniose visceral canina*. [Dissertation]. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco; 2008.

Matos MM, Filgueira KD, Amora SSA, Suassuna ACD, Ahid SMM, Alves ND. Ocorrência da Leishmaniose Visceral em cães em Mossoró, Rio Grande do Norte. *Ciênc Anim* 2006; 16(1): 51-54.

Melo MN. Leishmaniose Visceral no Brasil: desafios e perspectivas. *Rev Bras Parasitol Vet* 2004; 13(S1): 41-45.

Mendes RS, Santana VL, Jansen AM, Xavier SCC, Vidal IF, Rotondano TEF, et al. Aspectos epidemiológicos da Doença de Chagas canina no semiárido paraibano. *Pesq Vet Bras* 2013; 33(12): 1459-1465. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2013001200011>.

Morais AN, Sousa MG, Meireles LR, Kesper N Jr, Umezawa ES. Canine visceral leishmaniasis and Chagas disease among dogs in Araguaína, Tocantins. *Rev Bras*

Parasitol Vet 2013; 22(2): 225-229. <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612013005000024>. PMID:23802237.

Naveda LAB, Moreira EC, Machado JG, Moraes JRC, Marcelino AP. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral canina no município de Pedro Leopoldo, Minas Gerais, 2003. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2006; 58(6): 988-993. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352006000600003>.

Oliveira SS, Araújo TM. Avaliação das ações de controle da leishmaniose visceral (calazar) em uma área endêmica do estado da Bahia, Brasil (1995-2000). *Cad Saude Publica* 2003; 19(6): 1681-1690. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2003000600012>. PMID:14999334.

Reichmann MLAB, Pinto HBF, Nunes VP. *Vacinação contra raiva de cães e gatos* [online]. São Paulo; 1999 [cited 2015 Oct 10]. Available from: http://www.saude.sp.gov.br/resources/instituto-pasteur/pdf/manuais/manual_03.pdf.

Rondon FCM, Bevilaqua CML, Franke CR, Barros RS, Oliveira FR, Alcântara AC, et al. Cross-sectional serological study of canine *Leishmania* infection in Fortaleza, Ceará state, Brazil. *Vet Parasitol* 2008; 155(1-2): 24-31. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.04.014>. PMID:18565676.

Santa Rosa ICA, Oliveira ICS. Leishmaniose Visceral: zoonose reemergente. *Clin Vet* 1997; 2(11): 24-28.

Silva MRM, Nascimento RCS, Negrão AMG, Valente VC, Valente SAS. *Perfis sorológicos e hematológicos de cães em área de ocorrência de doença de chagas aguda no município de Bragança, estado do Pará* [online]. Santa Catarina: Anclivepa; 2014 [cited 2014 May 04]. Available from: www.anclivepa2014.com.br/353/135.pdf.

Silva PB, Fernandes JI. *Aspectos clínicos epidemiológicos da infecção por Trypanosoma cruzi em cães naturalmente infectados no município de São Domingos Do Capim – Pará* [online]. Pará: UFPA; 2013 [cited 2013 Sept 17]. Available from:

http://www.pibic.ufpa.br/ANAISSEMINIC/XXIVSEMINIC/arquivos/resumos/Ciencias_Agrarias/ciencias_agrarias_014.pdf.

Simões-Mattos L, Mattos MRF, Teixeira MJ, Oliveira-Lima JW, Bevilaqua CML, Prata-Júnior RC, et al. The susceptibility of domestic cats (*Felis catus*) to experimental infection with *Leishmania braziliensis*. *Vet Parasitol* 2005; 127(3-4): 199-208. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.10.008>. PMID:15710520.

Souza AI, Oliveira TMFS, Machado RZ, Camacho AA. Soroprevalência da infecção por *Trypanosoma cruzi* em cães de uma área rural do Estado de Mato Grosso do Sul. *Pesqui Vet Bras* 2009; 29(2): 150-152. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2009000200011>.

Thrusfield M. *Veterinary epidemiology*. 3rd ed. Oxford: Blackwell Science; 2007.

Uchôa CMA, Serra CMB, Duarte R, Magalhães CM, Silva RM, Theophilo F, et al. Aspectos sorológicos e epidemiológicos da leishmaniose tegumentar americana canina em Maricá, Rio de Janeiro, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2001; 34(6): 563-568. <http://dx.doi.org/10.1590/S003786822001000600011>. PMID:11813064.

Umezawa ES, Silveira JF. Serological diagnosis of Chagas disease with purified and defined *Trypanosoma cruzi* antigens. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1999;94(S1 Suppl Suppl 1): 285-288. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02761999000700051>. PMID:10677737.

World Health Organization – WHO. *Guidelines for dog population management*. Geneva: WHO; 1990.

World Health Organization – WHO. *Chagas disease (American trypanosomiasis)* [online], Geneva: WHO; 2015 [cited 2015 Mar 01]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>.

Zar JH. *Biostatistical analysis*. 4th ed. Upper Saddle River: Prentice Hall; 1999.

Table 1. Seropositivity for visceral leishmaniasis, Chagas disease and both diseases in dogs in the period from January 2013 to June 2014, in the State of Paraíba, Brazil.

County	Number of dogs		Leishmaniasis			Chagas disease			Both diseases		
	Total	Sampled	Positive	%	95% CI	Positive	%	95% CI	Positive	%	95% CI
Sousa	6,843	125	9	7.2	2.7 – 11.7	6	4.8	1.1 – 8.5	5	4.0	1.7 – 9.0
Patos	10,553	206	38	18.4	13.1 – 23.7	39	18.9	13.6 – 24.3	23	11.1	7.6 – 16.2
João Pessoa	78,073	338	20	5.9	3.4 – 8.4	16	4.7	2.5 – 7.0	10	2.9	1.6 – 5.4
Cajazeiras	6,103	125	5	4.0	1.7 – 9.2	7	5.6	1.6 – 9.6	4	3.2	1.3 – 7.9
Campina	40,291	249	9	3.6	1.3 – 5.9	15	6.0	3.1 – 9.0	7	2.8	1.4 – 5.7
Total	141,863	1,043	81	7.8	6.1 – 9.4	83	7.9	6.3 – 9.6	49	4.6	3.6 – 6.2

95% CI: 95% confidence interval.

Table 2. Univariable analysis for risk factors associated with the seropositivity for visceral leishmaniasis and Chagas disease in dogs in the period from January 2013 to June 2014, in the State of Paraíba, Brazil.

Variável	Category	Total number of dogs	Leishmaniasis		Chagas disease	
			Positive dogs (%)	P	Positive dogs (%)	P
County of origin	Sousa	125	9 (7.2)		6 (4.8)	
	Patos	206	38 (18.4)		39 (18.9)	
	João Pessoa	338	20 (5.9)		16 (4.7)	
	Cajazeiras	125	5 (4.0)		7 (5.6)	
	Campina	249	9 (3.6)	<0.001	15 (6.0)	<0.001
Level of education of the owner	Illiterate	20	3 (15.0)		2 (10.0)	
	1 st degree	272	22 (8.1)		21 (7.7)	
	2 nd degree	474	44 (9.3)		48 (10.1)	
	3 rd degree	277	12 (4.3)	0.055*	12 (4.3)	0.043*
Gender	Male	554	48 (8.7)		48 (8.7)	
	Female	489	33 (6.7)	0.299	35 (7.2)	0.434
Age	≤ 12 months	345	22 (6.4)		21 (6.1)	
	13-48 months	538	46 (8.6)		46 (8.6)	
	49-72 months	97	10 (10.3)		12 (12.4)	
	> 72 months	63	3 (4.8)	0.382	4 (6.3)	0.194*
Breed	Undefined	567	60 (10.6)		58 (10.2)	
	Defined	476	21 (4.4)	<0.001	25 (5.3)	0.004*
Condition of housing	Domiciled	724	30 (4.1)		35 (4.8)	
	Semi-domiciled	195	22 (11.3)		23 (11.8)	
	Free	124	29 (23.4)	<0.001	25 (20.2)	<0.001
Dog food	Commercial	411	17 (4.1)		23 (5.6)	
	Homemade	104	20 (19.2)		14 (13.5)	
	Homemade meals	283	22 (7.8)		21 (7.4)	
	Commercial + homemade	49	5 (10.2)		5 (10.2)	
	Commercial + homemade meals	196	17 (8.7)	<0.001	20 (10.2)	0.056*
Contact with other dogs	No	451	19 (4.2)		22 (4.9)	
	Yes	592	62 (10.5)	<0.001	61 (10.3)	0.002*
Contact with bovine	No	960	59 (6.1)		63 (6.6)	
	Yes	83	22 (26.5)	<0.001	20 (24.1)	<0.001
Contact with horses	No	1031	79 (7.7)		81 (7.9)	
	Yes	12	2 (16.7)	0.238	2 (16.7)	0.246
Contact with cats	No	805	44 (5.5)		51 (6.3)	

	Yes	238	37 (15.5)	<0.001	32 (13.4)	0.001*
Contact with goat/sheep	No	972	61 (6.3)		67 (6.9)	
	Yes	71	20 (28.2)	<0.001	16 (22.5)	<0.001
Contact with pigs	No	1034	81 (7.8)		82 (7.9)	
	Yes	9	0 (0.0)	1.000	1 (11.1)	0.527
Contact with wild animals	No	911	60 (6.6)		64 (7.0)	
	Yes	132	21 (15.9)	<0.001	19 (14.4)	0.006*
Environmental conditions	Soil	198	24 (12.1)		17 (8.6)	
	Soil/cement	398	46 (11.6)		43 (10.8)	
	Cement	447	11 (2.5)	<0.001	23 (5.1)	0.009*
Environmental hygiene	No	137	21 (15.3)		18 (13.1)	
	Yes	906	60 (6.6)	0.001*	65 (7.2)	0.025*
Traveling with the dog	No	947	79 (8.3)		78 (8.2)	
	Yes	96	2 (2.1)	0.047*	5 (5.2)	0.397
Presence of rodents	No	771	66 (8.6)		66 (8.6)	
	Yes	272	15 (5.5)	0.138*	17 (6.3)	0.280
Access to water dams	No	867	53 (6.1)		56 (6.5)	
	Yes	176	28 (15.9)	<0.001	27 (15.3)	<0.001

*Variables selected for the multiple analysis ($p \leq 0.2$); p: probability of casual occurrence

Table 3. Risk factors associated with the seropositivity for visceral leishmaniasis and Chagas disease in dogs in the period from January 2013 to June 2014, in the State of Paraíba, Brazil.

Risk factor	Odds ratio (OR)	95% IC	P
Leishmaniasis			
Semi-domiciled housing	2.044	1.107 – 3.777	0.022
Free housing	4.151	2.046 – 8.423	<0.001
Environmental condition (soil)	3.425	1.514 – 7.747	0.003
Environmental condition	3.065	1.493 – 6.290	0.002
Chagas disease			
Semi-domiciled housing	2.353	1.331 – 4.159	0.003
Free housing	3.454	1.740 – 6.854	<0.001
Contact with bovine	2.015	1.005 – 4.039	0.048

95% CI: 95% confidence interval; probability of casual occurrence.

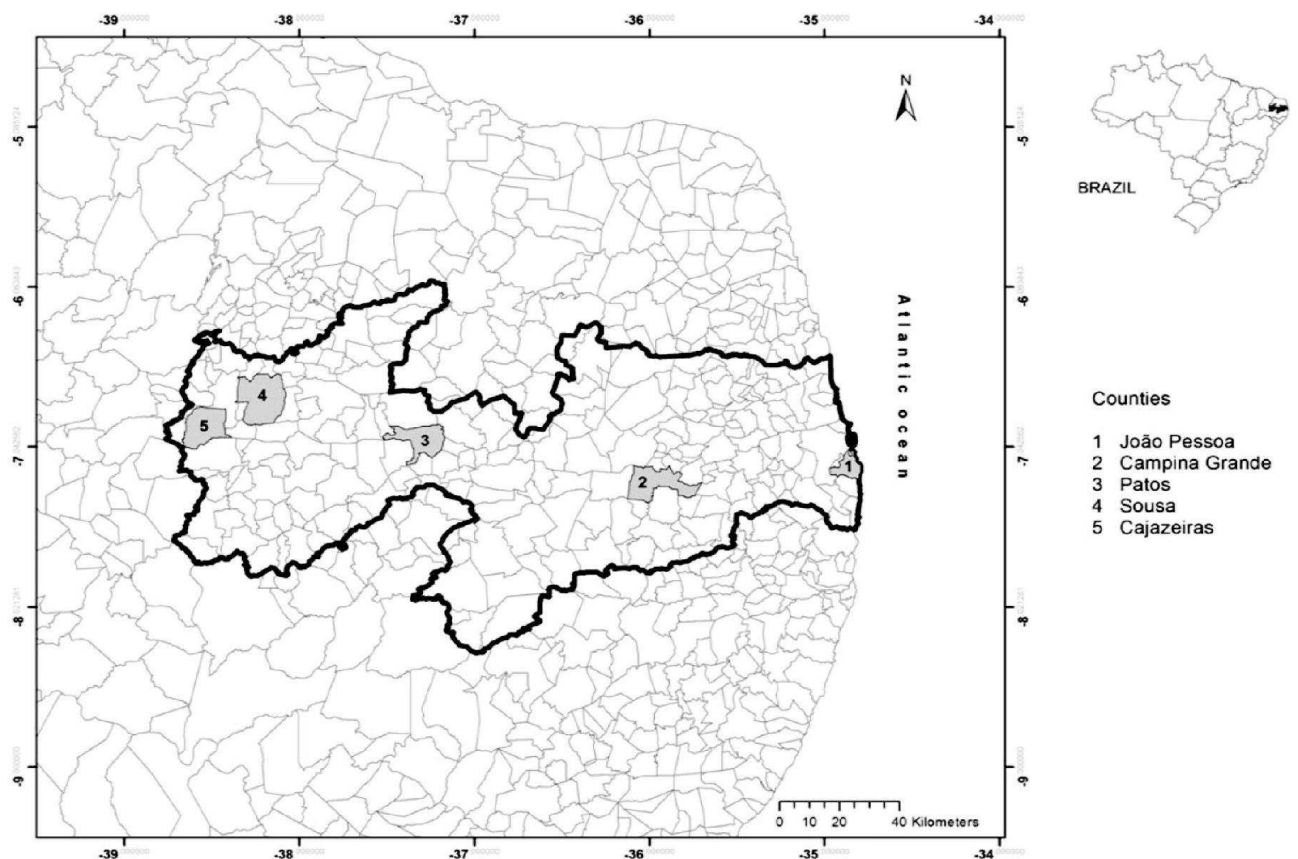


Figure 1. Geographical distribution of counties used. Detail shows the State of Paraíba within Brazil.

4. CAPÍTULO II

SOROPREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO PARA LEPTOSPIROSE, TOXOPLASMOSE E NEOSPOROSE NA POPULAÇÃO CANINA DO ESTADO DA PARAÍBA, NORDESTE DO BRASIL

“Seroprevalence and risk factors for leptospirosis, toxoplasmosis and neosporosis in the canine population of Paraíba state, northeastern Brazil”

Trabalho submetido à Revista
Pesquisa Veterinária Brasileira,
Seropédica – RJ. Qualis A2-JCR
0,538. Manuscrito em português.

Soroprevalência e fatores de risco para leptospirose, toxoplasmose e neosporose na população canina do Estado da Paraíba, Nordeste do Brasil¹

Annielle Regina F. Fernandes², Diego F. Costa², Muller R. Andrade³, Tereza E. F. Rotondano⁴, Camila S. Bezerra², Rinaldo A. Mota³, Hélio Langoni⁵, Sérgio S. Azevedo^{2*}

ABSTRACT.- Fernandes A.R.F., Costa D.F., Andrade M.R., Rotondano T.E.F, Bezerra C.S., Mota R.A., Langoni H. & Azevedo S.S. [Seroprevalence and risk factors for leptospirosis, toxoplasmosis and neosporosis in the canine population of Paraíba state, northeastern Brazil] Soroprevalência e fatores de risco para leptospirose, toxoplasmose e neosporose na população canina do Estado da Paraíba, Nordeste do Brasil. Pesquisa Veterinária Brasileira 00(0):00-00. Laboratório de Doenças Transmissíveis, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Av. Universitária, s/n, Santa Cecília, CEP 58700-970, Patos, PB, Brasil. E-mail: sergio@vps.fmvz.usp.br.

The aim of this study was to determine the prevalence of seropositive animals for *Leptospira* spp., *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs from Paraíba state, northeastern Brazil, and to identify risk factors. A total of 1,043 sera were sampled from dogs from five urban centers considered as regional poles: João Pessoa, Campina Grande, Patos, Sousa and Cajazeiras. For the serological diagnosis of *Leptospira* spp. infection the microscopic agglutination test (MAT) was used, and for detecting anti-*T. gondii* and *N. caninum* antibodies the indirect fluorescent antibody test (IFAT) was carried out. Ninety-seven dogs showed anti-*Leptospira* spp. agglutinins, resulting in a prevalence of

¹Recebido em

²Laboratório de Doenças Transmissíveis, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Patos, Av. Universitária, s/n, Santa Cecília, CEP 58700-970, Patos, PB, Brasil.*Autor para correspondência: sergio@vps.fmvz.usp.br.

³Laboratório de Doenças Infectocontagiosas dos Animais Domésticos, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, CEP: 52171-900, Recife, PE, Brasil.

⁴Médica Veterinária, Universidade Federal da Paraíba, Campus de Areia, Rodovia PB-079, CEP: 58397-000 Areia, PB, Brasil.

⁵Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de Botucatu, Distrito de Rubião Júnior s/n, CEP 18618-970, Botucatu, SP, Brasil.

9.3% (95% CI = 7.5 - 11.1%). The most frequent serovars were Icterohaemorrhagiae (47.4%), Copenhageni (16.5%), Bratislava (11.3%), Canicola (10.3%) and Pomona (6.2%). The seroprevalences for *T. gondii* and *N. caninum* were 22.1% (231/1043; 95% CI = 19.6 - 24.7%) and 7.7% (80/1043; 95% CI = 6.1 - 9.3%), respectively. Age > 48 months (OR = 2.92), mixed breed (OR = 1.94) and access to street (OR = 1.57) were identified as risk factors for *Leptospira* spp. infection. For toxoplasmosis, the categories age > 48 months (OR = 1.74), homemade food (OR = 2.24), commercial and homemade food (OR = 2.34) and contact with cats (OR = 1.57) were considered risk factors, while access to street (OR = 2.62) was risk factor for *N. caninum*. We conclude that dogs from five urban centers in the Paraíba state are exposed to *Leptospira* spp., *T. gondii* and *N. caninum* infections, evidenced by antibody detection, as well as it is suggested a better feed management, control of outside home environment access and proper disposal of cat feces.

INDEX TERMS: Dogs, *Leptospira* spp, *T. gondii*, *N. caninum*, risk factors, Northeastern Brazil.

RESUMO.- Objetivou-se com este trabalho determinar a prevalência de animais soropositivos para *Leptospira* spp., *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em cães do Estado da Paraíba, Nordeste do Brasil, bem como identificar fatores de risco. Foram amostrados 1.043 soros de cães procedentes de cinco centros urbanos considerados polos regionais: João Pessoa, Campina Grande, Patos, Sousa e Cajazeiras. Para o diagnóstico sorológico da infecção por *Leptospira* spp. foi utilizada a soroaglutinação microscópica (SAM) enquanto que para detecção de anticorpos anti-*T. gondii* e *N. caninum* empregou-se a reação de imunofluorescência indireta (RIFI). Noventa e sete cães apresentaram aglutininas anti-*Leptospira* spp., resultando em prevalência de 9,3% (IC 95% = 7,5 – 11,1%). Os sorovares de maior frequência foram Icterohaemorrhagiae (47,4%), Copenhageni (16,5%), Bratislava (11,3%), Canicola (10,3%) e Pomona (6,2 %). Observou-se soroprevalência de 22,1% (231/1.043; IC 95% = 19,6 – 24,7%) e 7,7% (80/1.043; IC 95% = 6,1 – 9,3%) para *T. gondii* e *N. caninum*, respectivamente. Idade > 48 meses (OR = 2,92), raça não definida (OR = 1,94) e criação com acesso à rua (OR = 1,57) foram apontados como fatores de risco para infecção por *Leptospira* spp. Para toxoplasmose, as categorias idade > 48 meses (OR = 1,74), alimentação com comida

caseira (OR = 2,24), alimentação com ração e comida caseira (OR = 2,34) e contato com gatos (OR = 1,57) foram considerados fatores de risco, enquanto que a criação com acesso à rua (OR = 2,62) foi fator de risco para *N. caninum*. Conclui-se que cães de cinco centros urbanos do Estado da Paraíba estão expostos às infecções por *Leptospira* spp., *T. gondii* e *N. caninum*, evidenciadas pela detecção de anticorpos, bem como sugere-se melhor manejo alimentar, controle no acesso a ambientes externos e destino adequado das fezes de gatos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Cães, *Leptospira* spp., *T. gondii*, *N. caninum*, fatores de risco, Nordeste do Brasil.

INTRODUÇÃO

A estreita relação entre cão e ser humano ao longo dos anos garantiu que infecções consideradas importantes em regiões tropicais como a leptospirose, toxoplasmose e neosporose se tornassem objeto de atenção e investigação, uma vez que os cães podem atuar como fontes de infecção para leptospirose e neosporose, bem como são considerados sentinelas para toxoplasmose (Coiro et al. 2011).

A leptospirose é uma doença infectocontagiosa causada por bactérias do gênero *Leptospira*. Atualmente são reconhecidas 20 espécies por homologia de DNA e, em cada espécie, são identificados vários sorovares. Essas diferentes espécies são classificadas em três grupos: patogênicas, intermediárias/opportunistas e não patogênicas (Paes 2016). O homem, os animais domésticos e várias espécies de animais selvagens podem ser infectados por leptospirosas, sendo referidas duas categorias da doença com implicações clínicas diferentes: quando o animal é infectado com um sorovar hospedeiro-adaptado, tornando-se reservatório; e quando animais susceptíveis são expostos a sorovares não adaptados, causando a doença acidental, forma comum também nos humanos. Nas duas situações, os animais infectados eliminam leptospirosas pela urina por período de semanas a meses, contaminando o ambiente (Adler 2015).

O principal reservatório de *Leptospira* spp. no meio urbano é reconhecidamente o rato, particularmente o *Rattus norvegicus*, que alberga a bactéria de forma permanente, principalmente os membros do sorogrupo Icterohaemorrhagiae, sendo capaz de eliminá-la de forma intermitente e por longos períodos pela urina (Faine et al. 1999). No entanto, entre os animais domésticos, o cão tem grande importância na transmissão ao homem em função do contato estreito, podendo ser importante fonte de infecção por excretar

leptospiras pela urina por longos períodos; além disso, o contato indireto com água ou solo contaminado com leptospiras também são vias de transmissão comuns para seres humanos (Fernandes et al. 2013).

Toxoplasmose e neosporose são doenças parasitárias causadas por protozoários antigenicamente relacionados e de distribuição mundial, *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum*, responsáveis por distúrbios neurológicos, gastrintestinais, respiratórios e musculares em cães. Os felinos são considerados hospedeiros definitivos de *T. gondii*, e *N. caninum* tem como hospedeiros definitivos o cão e canídeos silvestres eliminando os oocistos em suas fezes contaminando o ambiente (McAllister et al. 1998, Gondim et al. 2004, King et al. 2010, Dubey et al. 2011). Para ambos os agentes várias espécies podem atuar como hospedeiros intermediários, contudo, na infecção por *N. caninum* os bovinos merecem destaque pelos danos reprodutivos e produtivos que o agente ocasiona (Reichel et al. 2013).

A toxoplasmose é um sério problema de saúde pública, uma vez que a doença clínica ocorre em grupos de risco, representados principalmente por mulheres grávidas e indivíduos imunocomprometidos. Os seres humanos adquirem a infecção pela ingestão de alimentos e água contaminados com oocistos esporulados ou ainda pelo consumo de carne crua ou mal cozida de animais de produção, especialmente suínos, caprinos e ovinos contendo cistos teciduais (Dubey 2010). Os cães são considerados um risco potencial para a transmissão do agente, pois podem mecanicamente transmitir oocistos ao homem (Dubey et al. 2007). A infecção da população canina é uma indicação do ambiente doméstico contaminado pelo *T. gondii*, com conseqüente risco de contaminação para a população humana, ligado ao fato de que tanto o homem quanto os cães estão expostos a um veículo de contaminação comum, representado pelo ambiente e hábitos alimentares. Dessa forma, a espécie canina pode ser considerada animal sentinela para a infecção (Coiro et al. 2011). Não há relatos de casos de neosporose em humanos, embora já tenham sido detectados anticorpos para *N. caninum* em pacientes com HIV (Lobato et al. 2006).

No Estado da Paraíba não há estudos epidemiológicos para leptospirose, toxoplasmose e neosporose em cães conduzidos com base em amostragem planejada e contemplando vários centros urbanos. Dessa maneira, tendo em vista a relevância dessas doenças em saúde pública e o papel dos cães na epidemiologia, o objetivo desse trabalho foi determinar indicadores epidemiológicos (soroprevalência e fatores de risco) na população canina de cinco centros urbanos da Paraíba.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem. Foram utilizados cães com idade acima de três meses provenientes de visitas às residências de seus proprietários, atendimentos em clínicas e laboratórios de análises clínicas veterinárias. Os animais foram procedentes dos municípios de João Pessoa, Campina Grande, Patos, Sousa e Cajazeiras (Figura 1), considerados polos regionais no Estado da Paraíba e localizados ao longo de uma das principais rodovias, a BR-230 (Rodovia Transamazônica). A amostra foi calculada a partir da população total de cães dos cinco municípios, estimada em 141.863 animais (6.843 animais em Sousa, 10.553 em Patos, 78.073 em João Pessoa, 6.103 em Cajazeiras e 40.291 em Campina Grande). Esta estimativa foi baseada nos dados de população humana do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), para o ano de 2013. Para o cálculo da proporção cão/homem no meio urbano, foi utilizada a relação de 1:10 (Who 1990, Reichmann et al. 1999). O tamanho da amostra foi calculado para cada município com uma estimativa de prevalência de 50% (valor adotado para maximização da amostra), nível de confiança de 95% e erro de 10% (Thrusfield 2007), o que gerou um tamanho amostral de no mínimo 96 animais por município. No entanto, foram utilizados 1.043 animais distribuídos da seguinte maneira: 125 animais em Sousa, 206 em Patos, 338 em João Pessoa, 125 em Cajazeiras e 249 em Campina Grande.

Não foram estabelecidos critérios probabilísticos para a seleção dos animais, de maneira que a inclusão do animal na pesquisa ficou condicionada ao contato prévio e consentimento do proprietário. As amostras de sangue foram colhidas no período de janeiro de 2013 a dezembro de 2014, por punção das veias jugular externa ou cefálica utilizando-se seringas descartáveis de 5 mL, com posterior obtenção do soro e estocagem a -20°C até a realização da sorologia.

Diagnóstico sorológico. Para o diagnóstico sorológico da infecção por *Leptospira* spp. foi utilizada a técnica de soroaglutinação microscópica (OIE 2014). Utilizou-se como antígenos uma coleção de cepas de *Leptospira interrogans* sorotipos Australis, Copenhageni, Bataviae, Bratislava, Canicola, Grippotyphosa, Hardjoprajitno, Pomona, Icterohaemorrhagiae, Hebdomadis, Djasiman, Wolffi; *Leptospira borgpeterseni* sorotipos Autumnalis, Castellonis, Hardjobovis, Tarassovi, Sejroe; *Leptospira santarosai* sorotipo Guaricura; *Leptospira kirschneri* sorotipo Cynopteri; e *Leptospira noguchii* sorotipo Panama, todas cedidas pelo Laboratório de Bacteriologia Veterinária da Universidade Federal Fluminense (UFF) e oriundas do Instituto Pasteur, França. Os soros foram triados na diluição de 1:100, e aqueles que apresentaram 50% ou mais de

aglutinação foram titulados pelo exame de uma série de diluições geométricas de razão dois. O título do soro foi a recíproca da maior diluição que apresentou resultado positivo. Animais com título ≥ 100 foram considerados positivos. Os antígenos foram examinados ao microscópio de campo escuro, previamente aos testes, a fim de verificar a mobilidade e a presença de auto-aglutinação ou de contaminantes.

A detecção de anticorpos anti-*T. gondii* e anti-*N. caninum* foi realizada através da reação de imunofluorescência indireta (RIFI), segundo metodologia descrita por Camargo (1964) e Dubey et al. (1988), respectivamente. Lâminas para imunofluorescência foram sensibilizadas com taquizoítos de *T. gondii* da cepa RH ou de *N. caninum* da cepa NC-1, purificadas a partir do cultivo celular. Os soros para ambos os agentes foram diluídos em solução salina tamponada (pH 7,2), adotando-se como ponto de corte as diluições 1:16 para *T. gondii* e 1:50 para *N. caninum*. Para a visualização da reação foi utilizado o anticorpo comercial anti-IgG canino (Sigma, USA) conjugado com isotiocianato de fluoresceína. As amostras que marcavam mais de 50% dos taquizoítos do poço com fluorescência periférica total foram consideradas positivas e submetidas a diluições sucessivas, adotando-se como título final o correspondente a última diluição com reação positiva.

Questionário epidemiológico. Na ocasião das colheitas de sangue os proprietários dos cães responderam a um questionário epidemiológico que foi elaborado de modo a fornecer variáveis com o intuito de verificar a ausência ou presença de algumas práticas e condições que pudessem atuar como possíveis fatores de risco para as doenças. As variáveis analisadas e as respectivas categorias foram: nível de escolaridade do proprietário (analfabeto, 1º grau, 2º grau, 3º grau), sexo (macho, fêmea), idade (≤ 12 meses, 13-48 meses, > 48 meses), raça (sem raça definida, com raça definida), tipo de criação (domiciliar, com acesso à rua), alimentação (ração comercial, comida caseira, ração e comida caseira), contato com cães (não, sim), contato com bovinos (não, sim), contato com equinos (não, sim), contato com gatos (não, sim), contato com caprinos/ovinos (não, sim), contato com suínos (não, sim), contato com animais silvestres (não, sim), ambiente (terra, cimento, terra e cimento), limpeza do ambiente (não, sim), vacinação (não, sim), passeio (não, sim), viagem (não, sim), presença de ratos (não, sim) e acesso à açudes (não, sim).

Análise de fatores de risco. A análise dos fatores de risco foi efetuada com os dados coletados com os questionários epidemiológicos e foi efetuada em duas etapas: análise univariável e análise multivariável. Na análise univariável, foram formados dois

grupos de animais – soropositivos e soronegativos – que foram comparados frente às variáveis analisadas. Aquelas variáveis que apresentaram valor de $P \leq 0,2$ pelo teste de qui-quadrado ou teste exato de Fisher (Zar 1999) foram selecionadas para a análise multivariável, utilizando-se regressão logística múltipla (Hosmer & Lemeshow 2000). O ajuste do modelo final foi verificado com o teste de Hosmer e Lemeshow, pelo qual um valor de $P > 0,05$ indica ajuste adequado, e a colinearidade entre variáveis independentes foi avaliada por análise de correlação; para aquelas variáveis com forte colinearidade (coeficiente de correlação $> 0,9$), uma das duas variáveis foi excluída da análise múltipla de acordo com a plausibilidade biológica (Dohoo et al. 1996). A influência de variáveis de confusão foi verificada pelo monitoramento de mudanças nos parâmetros no modelo final após a adição de novas variáveis. Mudanças substanciais (acima de 20%) nos coeficientes de regressão foram indicativas de confundimento. O nível de significância adotado na análise múltipla foi de 5%, e todas as análises foram realizadas com o programa SPSS 20.0 *for Windows*.

RESULTADOS

A prevalência de animais soropositivos para *Leptospira* spp. foi de 9,3% (97/1043) cujos títulos variaram de 100 a 400, predominando as reações para os sorovares Icterohaemorrhagiae com 47,4% (46/97), seguido pelo sorovar Copenhageni com 16,5% (16/97), Bratislava 11,3% (11/97), Canicola 10,3% (10/97), Pomona 6,2% (6/97), Grippothyphosa 3,1% (3/97), Australis e Castellonis com 2,1% (2/97) para cada sorovar, além do sorovar Bataviae com 1% (1/97). Observou-se presença de anticorpos contra *T. gondii* em 22,1 % (231/1043) dos animais, sendo que 65 (28,1%) deles apresentaram título 16, 24 (10,4%) com título 32, 82 (35,5%) título 64, 24 (10,4%) título 128, 35 (15,2%) título 256 e um (0,4%) animal reagiu até a titulação 4.096. Quanto à neosporose, 7,7% (80/1043) dos cães foram soropositivos com 55 (68,8%) animais apresentando título 50, 17 (21,2%) título 100 e oito (10%) título 200. A distribuição de soropositividade variou consideravelmente entre os municípios estudados, como apresentado no Quadro 1.

Na análise de fatores de risco (Quadro 2) para leptospirose, foram selecionadas, na análise univariável ($P \leq 0,2$), as seguintes variáveis: idade ($P = 0,005$), raça ($P = 0,012$), tipo de criação ($P = 0,006$), contato com cães ($P = 0,093$). Na regressão logística, as categorias idade > 48 meses (OR = 2,92), raça não definida (OR = 1,94) e criação com

acesso à rua (OR = 1,57) foram apontadas como fatores de risco para infecção por *Leptospira* spp. (Quadro 3). Para toxoplasmose, foram selecionadas na análise univariável as variáveis (Quadro 2): nível de escolaridade do proprietário ($P = 0,012$), idade ($P = 0,021$), tipo de criação ($P = 0,003$), alimentação ($P < 0,001$), contato com bovinos ($P = 0,011$), contato com gatos ($P < 0,001$), contato com caprino/ovino ($P = 0,007$), limpeza do ambiente ($P = 0,004$), presença de ratos ($P < 0,001$) e acesso à açudes ($P < 0,001$). Após regressão logística (Quadro 3), idade > 48 meses (OR = 1,74), alimentação com comida caseira (OR = 2,24), alimentação com ração e comida caseira (OR = 2,34) e contato com gatos (OR = 1,57) foram considerados fatores de risco. Já para neosporose foram selecionadas na análise univariável: nível de escolaridade do proprietário ($P = 0,194$), tipo de criação ($P < 0,001$), alimentação ($P = 0,078$), contato com bovinos ($P = 0,147$), presença de ratos ($P = 0,155$) (Quadro 2). Realizada a regressão logística, apenas a categoria criação com acesso à rua (OR = 2,62) foi apontada como fator de risco (Quadro 3). Os modelos finais de regressão logística apresentaram bom ajuste ($P > 0,05$; teste de Hosmer e Lemeshow).

DISCUSSÃO

De acordo com Faine et al. (1999), a realização de inquéritos sorológicos exercem papel de relevância indiscutível no controle da leptospirose, pois permitem o conhecimento dos diferentes sorogrupos existentes em determinada região, de modo que vários trabalhos investigando a presença de anticorpos anti-*Leptospira* spp. foram conduzidos no Brasil. Resultados superiores aos do presente estudo foram obtidos por Magalhães et al. (2006) em Belo Horizonte-MG, Silva et al. (2009) em Botucatu-SP, Castro et al. (2011) em Uberlândia-MG e mais recentemente por Mascoll et al. (2016) em Ibiúna-SP com 13,1% (448/3417), 17,9% (179/1000), 28,4% (76/268) e 32,8% (187/570), respectivamente. Prevalências relativamente próximas foram encontradas por Gonzalez et al. (2010) em cães de abrigo em Avaré-SP, Coiro et al. (2011) em Botucatu-SP e Fernandes et al. (2013) em Natal-RN com 9,3% (28/300), 7,6% (23/302) e 6,8% (25/365).

Fernandes et al. (2013) corroboram a afirmação de que diferenças na percentagem de positividade podem ser explicadas pela variedade de fatores que influenciam a ocorrência da leptospirose, com destaque para a topografia, região, temperatura, umidade, precipitações pluviométricas, reservatórios selvagens, reservatórios domésticos e outros fatores ambientais, bem como pela diferença nas populações caninas estudadas. Portanto,

em virtude de todas essas variáveis, é possível compreender que a soroprevalência da doença apresenta flutuações temporais e regionais (Genovez 2016).

Os sorovares com predominância de reações sorológicas são pertencentes ao sorogrupo Icterohaemorrhagiae (sorovares Icterohaemorrhagiae e Copenhageni) e apresentam como principais hospedeiros de manutenção os roedores sinantrópicos. Desses animais, o *Rattus norvegicus* (ratazana de esgoto) ocupa posição de destaque, embora o *Rattus rattus* (rato-do-telhado) e o *Mus musculus* (camundongo) também possam eliminar leptospiros patogênicos. Esses roedores são resistentes à doença clínica e atuam como portadores sadios pois albergam o agente nos túbulos renais e eliminam a bactéria no meio ambiente pela urina, contaminando a água e os alimentos oferecidos aos cães, além de utensílios usados no manejo dos animais como bebedouros e comedouros (Paes 2016). Silva et al. (2009), Lemos et al. (2010) e Morikawa et al (2015) também encontraram o sorovar Icterohaemorrhagiae como um dos mais prevalentes. Já o sorovar Copenhageni ficou entre os mais reagentes nos estudos de Tesserolli et al. (2005), Gonzalez et al (2010) e Silva et al. (2016).

Reações positivas para o sorovar Bratislava tiveram frequência de 11,3%. Paes (2016) afirma que embora os cães sejam os hospedeiros de manutenção do sorovar Canicola, esses animais também têm sido considerados hospedeiros incidentais de outros sorovares, dentre eles o Bratislava, sendo também relatado como causa de doença nessa espécie e considerado emergente ou reemergente em outros países. Batista et al. (2005) em cães da campanha de vacinação anti-rábica do município de Campina Grande-PB e Gonzalez et al. (2010) em cães de abrigo no município de Avaré-SP também obtiveram este sorovar como o mais prevalente. Dreer et al. (2013), em cães de abrigos em Umuarama-PR, encontraram este sorovar em 37,5% das amostras e atribuíram a um estreito contato com os cavalos infectados que também encontravam-se neste abrigo, usados como animais de tração na área urbana daquela cidade. Em inquéritos sorológicos realizados em equinos, no Brasil, Icterohaemorrhagiae é o sorovar predominante, estando mais relacionado com casos clínicos graves. No entanto, também têm sido encontrados plantéis de equinos com predomínio de reações sorológicas para os sorovares Pomona, Grippotyphosa e Bratislava (Genovez 2016). Vale salientar que é comum, em vários municípios do Estado da Paraíba, a ocorrência de equinos circulando livremente no ambiente urbano.

O sorovar Canicola é reconhecidamente o mais encontrado em cães e foi apontado como o quarto mais prevalente neste estudo. Esta espécie é a principal hospedeira desse

sorovar, que apresenta adaptação ao tecido renal canino, podendo ser eliminado pelo portador por longo tempo constituindo importante fonte de infecção para o homem. Vários autores também encontraram este sorovar como um dos mais prevalentes (Coiro et al. 2011, Dreer et al. 2013, Fontes et al. 2013, Morikawa et al. 2015, Silva et al. 2016, Masculli et al. 2016), no entanto, o que se vem observando ao longo do tempo é a crescente ocorrência de outros sorovares de *Leptospira* spp. causando doença clínica nos cães.

Em relação ao sorovar Pomona, o mesmo já foi identificado em outros estudos de soroprevalência da leptospirose em cães no Brasil, porém não como um dos mais prevalentes (Magalhães et al. 2006, Fontes et al. 2013). Países como EUA e Alemanha tem experimentado uma elevação na ocorrência de sorovares considerados não usuais em cães doentes como Pomona, Bratislava, Autumnalis e Grippothyphosa (Paes 2016). Os suínos e bovinos são os hospedeiros de manutenção do sorovar Pomona, reforçando a ideia de possível contato com estas espécies mantenedoras no ambiente.

A ocorrência de reações positivas para os sorovares Grippotyphosa, Australis, Castellonis e Bataviae, embora em menores porcentagens, aponta a importância da população de roedores na transmissão da doença, visto que esses animais são os hospedeiros de manutenção dessas sorovarietades, reforçando então a necessidade de programas de controle de roedores com adoção de medidas ofensivas como desratização além de medidas preventivas através da inclusão de modificações ambientais (antirratização) e educação em saúde (Faine et al. 1999, Fernandes et al. 2013).

De acordo com Paes (2016), os inquéritos sorológicos realizados em áreas urbanas no Brasil têm encontrado predomínio dos sorovares Icterohaemorrhagiae e Canicola, apesar de uma relativa variação ou regionalização de certos sorovares. O aumento da ocorrência desses “novos” sorovares pode ser justificado pelo controle da doença com o uso de vacinas contendo os sorovares clássicos (Canicola e Icterohaemorrhagiae) e pelo contato ou coabitação de cães e outras espécies domésticas ou animais silvestres. Dessa forma, reforça-se ainda mais a importância da pesquisa continuada no desenvolvimento das vacinas contra a doença e a necessidade da inclusão de novos sorovares visando a elaboração de vacinas mais efetivas. Apesar da baixa frequência de animais soropositivos no presente trabalho, nota-se que anticorpos para sorovares importantes na espécie canina foram encontrados e que poderiam ser evitados com as vacinas comercializadas atualmente. Entretanto, com os dados obtidos dos questionários epidemiológicos

verificou-se pouca utilização de vacinas antileptospirose na região, uma vez que somente 20,9% dos cães estudados tinham sido vacinados pelo menos uma vez na vida.

Com relação aos fatores de risco, os resultados mostram que cães com idade acima de 48 meses tem 2,92 vezes mais chances de adquirir a infecção. Dados semelhantes também foram relatados por Greene et al. (2006) e Masculli et al. (2016) podendo ser justificado pelo tempo de exposição ao agente, já que animais mais velhos têm mais tempo para entrar em contato com o agente etiológico. Pode-se atribuir também à chegada da maturidade sexual dos animais, na qual os cães têm o hábito de lambar e cheirar as genitálias podendo entrar em contato com vestígios de urina contaminada; além disso, filhotes normalmente são alvo de cuidados maiores por parte dos proprietários, permanecendo em ambientes mais protegidos, inclusive durante a noite, o que diminui seu contato com possíveis fontes de infecção (Greene et al. 2006).

A não definição da raça também foi apontada como fator de risco para leptospirose. Animais sem raça definida, geralmente, têm mais acesso à rua, o que aumenta o risco de exposição às leptospirosas. Os cães com acesso à rua tiveram um risco 1,57 vezes maior de se infectarem em relação àqueles que não tiveram acesso à rua, uma vez que animais soltos se expõem mais ao risco de contrair a leptospirose pelo contato com outros animais doentes, áreas alagadiças ou mesmo com os principais reservatórios da espiroqueta constituídos pelos roedores sinantrópicos. Azevedo et al. (2011) e Masculli et al. (2016) também encontraram essas categorias como fatores de risco para a infecção por *Leptospira* spp.

Não foi observada associação entre a variável presença de ratos e a ocorrência da infecção embora sorovares mantidos por estes animais foram apontados entre os mais frequentes. Fernandes et al. (2013) não obtiveram nenhuma associação entre as variáveis estudadas e a ocorrência da infecção apesar dos sorovares prevalentes estarem relacionados com roedores. Uma explicação para isso seria o constrangimento, por parte dos proprietários, ao responderem afirmativamente a questão sobre presença de roedores na residência, o que os leva a uma possível omissão da informação.

Para *T. gondii* 22,1% (231/1043) dos cães foram soropositivos. Ullmann et al. (2008) em estudo retrospectivo na cidade de Botucatu-SP com 1.097 amostras obtiveram 299 reagentes (27,25%). Resultados semelhantes também foram obtidos por Moura et al. (2009) em Lages e Balneário Camboriú-SC com 22,3% (89/400) de soroprevalência e Lopes et al. (2011) em Teresina-PI com 18% (100/530). Já Azevedo et al. (2005) em Campina Grande-PB, Langoni et al. (2006) e Masculli et al. (2015) no interior de São

Paulo obtiveram prevalências maiores com 45,1% (129/286), 33,1% (258/780) e 55,1% (314/570) respectivamente. A literatura mostra que taxas de soroprevalência de *T. gondii* podem apresentar variações consideráveis, já que a transmissão está associada à características geo-climáticas regionais e fatores epidemiológicos, como o número de felinos infectados na área estudada, manejo dos animais, hábitos e comportamentos culturais, condições sócio-econômicas e práticas sanitárias na comunidade, além dos aspectos intrínsecos do parasita como a variabilidade genética (Silva et al. 2010, Mascolli et al. 2015).

Ao considerar a idade dos animais como fator de risco para *T. gondii*, nota-se que animais com idade > 48 meses possuem 1,74 vezes mais chance de serem soropositivos. Fato semelhante foi também observado por Azevedo et al. (2005), Langoni et al. (2006), Lopes et al. (2011) e Dantas et al. (2014) em que as taxas relativas mais elevadas de infecção foram encontradas com o aumento da idade. A infecção pós-natal é uma das principais formas de transmissão da toxoplasmose, assumindo importância, em função da idade, para os animais adultos, visto que há risco maior de entrarem em contato com possíveis fontes de infecção e as mais variadas vias de transmissão (Dantas et al. 2014).

Alimentação dos animais à base de comida caseira ou mista (ração comercial e comida caseira) também foram considerados fatores de risco para *T. gondii*. De acordo com Silva & Silva (2016) a transmissão pela via oral é a mais importante para a infecção tanto na população humana quanto animal. Vale salientar que essa comida caseira constitui muitas vezes de restos de alimentação humana podendo ser composta de carnes cruas ou mal cozidas. O hábito de alimentação de sobras para animais de estimação é bem estabelecido entre os donos de cães no Brasil e este tipo de comportamento favorece a propagação da infecção por *T. gondii* (Silva et al. 2010). Resultados semelhantes que também suportam esta associação foram relatados por Moura et al. (2009), Silva et al. (2010) e Mascolli et al. (2015). Dentre os cinco centros urbanos estudados, o município de Cajazeiras foi o que apresentou maior taxa de positividade para toxoplasmose com 60% (IC 95%: 51,4 – 68,6) (Quadro 1), o que possivelmente se refere ao fato de que dos 125 animais amostrados 78,4% se alimentavam de comida caseira ou de forma mista. Fato semelhante ocorreu com o município de Sousa, com a segunda maior prevalência para toxoplasmose e 73,6% dos cães com o mesmo tipo de alimentação.

Quando analisada a presença de outras espécies animais em contato com os cães, a análise estatística demonstra que a convivência com gatos evidenciou um risco de 1,57 mais chances, revelando a influência da coabitação entre as duas espécies na ocorrência

de anticorpos contra *T. gondii*, fato esse plausível, uma vez que a espécie felina atua como hospedeira definitiva e agente de disseminação de *T. gondii* no ambiente. Azevedo et al. (2005) e Moura et al. (2009) também observaram que a coabitação com gatos representa um fator de risco para a soropositividade dos cães. Nesse contexto, ressalte-se a importância da destinação adequada das fezes dos gatos com o objetivo de evitar a contaminação ambiental de oocistos e, conseqüentemente, infecção de outros animais e seres humanos.

Quanto à neosporose, dos 1.043 cães, 80 apresentaram anticorpos anti-*N. caninum* resultando em soroprevalência de 7,7%. Frequências similares ao presente estudo foram constatadas por Azevedo et al. (2005), 8,4% (24/286), utilizando cães de campanha de vacinação anti-rábica em Campina Grande-PB, Jesus et al. (2006), 12,1% (50/415), nos municípios de Salvador e Lauro de Freitas-BA com cães domiciliados e errantes, Dantas et al. (2013), 6,5% (31/476), analisando cães provenientes de atendimento de clínicas particulares em Natal-RN, e Masculli et al. (2015), 7,02% (40/570), em cães domiciliados de zona urbana, periurbana e rural de Ibiúna-SP. Resultados superiores foram constatados por Moraes et al. (2008) na Microrregião da Serra de Botucatu-SP e Fridlund-Plugge et al. (2008) em Curitiba-PR, ambos os trabalhos utilizando cães de áreas urbana, periurbana e rural com 25,4% (245/963) e 18,7% (101/556) de soropositividade, respectivamente. Entretanto, prevalências inferiores foram encontradas por Coiro et al. (2011) em Botucatu-SP analisando cães domiciliados e peridomiciliados com 1,98% (6/302) e Lopes et al. (2011) em cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal do Piauí com 3,2% (17/530) de soropositividade.

A baixa soroprevalência de neosporose pode ser justificada pelo fato desta enfermidade ter maior ocorrência na zona rural. Moraes et al. (2008) verificaram que cães de zona periurbana apresentam índices de soropositividade maior do que em área urbana, no entanto, Masculli et al. (2015) não observaram diferenças significativas entre os cães urbanos, periurbanos e rurais. De acordo com Aguiar et al. (2006), essa variabilidade na soroprevalência observada nos estudos anteriores pode estar relacionada a dados referentes aos animais, como procedência, manejo, soropositividade ou não a outros agentes abortivos, assim como a profilaxia aplicada para os mesmos.

O fator de risco para *N. caninum* apontado após a regressão logística foi o tipo de criação com acesso à rua. Deve-se considerar que este tipo de manejo pode propiciar inúmeras chances de infecção pela proximidade com potenciais hospedeiros intermediários e possibilidades de caça ao contrário dos cães domiciliados, que raramente

entram em contato com carne, vísceras contaminadas e hospedeiros que facilitam a exposição ao agente (Magalhães et al. 2009). O município com maior índice de positividade para neosporose, Sousa, com 31,2% (IC 95%: 23,1 – 39,3%), refletiu essa característica com mais de 50% dos animais amostrados com algum tipo de acesso à rua.

Magalhães et al. (2009) observaram maior ocorrência de anticorpos contra *N. caninum* em cães errantes quando comparados aos domiciliados na cidade de Ilhéus-BA. O mesmo foi observado por Mineo et al. (2004) em Minas Gerais e Jesus et al. (2006) também na Bahia, entretanto, sem diferença significativa. Vale lembrar que no presente estudo, apesar de os animais terem acesso às ruas, todos possuíam proprietários, o que os difere dos cães errantes dos estudos anteriores. Azevedo et al. (2005) trabalhando com cães urbanos domiciliados de Campina Grande-PB também constataram que cães com acesso à rua tinham maiores chances de soropositividade do que aqueles que permaneciam exclusivamente em ambiente doméstico.

CONCLUSÕES

Conclui-se que cães de cinco centros urbanos do Estado da Paraíba estão expostos às infecções por *Leptospira* spp., *T. gondii* e *N. caninum*, evidenciadas pela detecção de anticorpos, indicando que estes agentes circulam nesta população. Sugere-se melhor manejo alimentar dos animais, controle no acesso a ambientes externos e destino adequado das fezes dos gatos.

REFERÊNCIAS

- Adler B. 2015. *Leptospira* and *Leptospirosis*. Ed. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. 293 p.
- Aguiar D.M., Cavalcante G.T., Rodrigues A.A., Labruna M.B., Camargo L.M., Camargo E.P. & Gennari S.M. 2006. Prevalence of anti-*Neospora caninum* in cattle and dogs from western Amazon, Brazil, in association with some possible risk factors. *Vet. Parasitol.* 142 (1-2): 71-77.
- Azevedo S.S., Batista C.S.A., Vasconcellos S.A., Aguiar D.M., Ragozo A.M.A., Rodrigues A.A.R., Alves C.J. & Gennari S.M. 2005. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs from the state of Paraíba, Northeast region of Brazil. *Res. Vet. Sci.* 79 (1): 51-56.

Azevedo S.S., Fernandes A.R.F., Queiroga I.M.B.N., Alves C.J. Morais Z.M. Santos, C.S.A.B. & Vasconcellos S.A. 2011. Ocorrência e fatores de risco associados à leptospirose em cães atendidos em hospital veterinário no semiárido paraibano. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. 48 (2): 161-166.

Batista C.S.A., Alves C.J., Azevedo S.S., Vasconcellos S.A., Morais Z.M., Clementino I.J., Alves F.A.L., Lima F.S., Araújo Neto J.O. 2005. Soroprevalência e fatores de risco para a leptospirose em cães de Campina Grande, Paraíba. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 57 (supl. 2): 179-185.

Castro J.R., Salaberry S.R.S., Souza M.A. & Lima-Ribeiro A.M.C. 2011. Sorovares de *Leptospira* spp. predominantes em exames sorológicos de caninos e humanos no município de Uberlândia, Estado de Minas Gerais. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 44(2): 217-222.

Camargo M.E. 1964. Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis. Rev. Inst. Med. Trop. 6:117-118.

Coiro C.J., Langoni H., Silva R. C. & Ullmann L. S. 2011. Fatores de risco para leptospirose, leishmaniose, neosporose e toxoplasmose em cães domiciliados e peridomiciliados em Botucatu-SP. Vet. e Zootec. 18(3): 393-407.

Dantas S.B.A., Fernandes A.R.F., Neto O.L.S., Mota R.A., Alves C.J. & Azevedo S.S. 2013. Ocorrência e fatores de risco associados às infecções por *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em cães no município de Natal, Estado do Rio Grande do Norte, Nordeste do Brasil. Ciência Rural. 43(11): 2042-2048.

Dantas S.B.A., Fernandes A.R.F., Neto O.L.S., Mota R.A., Alves C.J. & Azevedo S.S. 2014. Fatores de risco para a ocorrência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em cães domiciliados no Nordeste do Brasil. Semin: Ciênc. Agrár. 35 (2): 875-882.

Dohoo I.R., Ducroc C., Fourichon C. Donald A. & Hurnik D. 1996. An overview of techniques for dealing with large numbers of independent variables in epidemiologic studies. *Prev. Vet. Med.* 29 (3): 221-239.

Dreer M.K.P., Gonçalves D.D., Caetano I.C.S., Gerônimo E., Menegas P.H., Bergo D., Lopes-Mori F.M.R., Benitez A., Freitas J.C., Evers F., Navarro I.T. & Martins L.A. 2013. *J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis.* 19:1-5.

Dubey J.P., Carpenter J.L., Speer C.A., Topper M.J. & Uggla A. 1988. Newly recognized protozoan disease of dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 192 (9): 1269-1285.

Dubey J.P., Lam T.T.H., Sundar N. & Su C. 2007. Genetic characterization of *Toxoplasma gondii* isolates in dogs from Vietnam suggests their South American origin. *Vet. Parasitol.* 146 (3-4): 347-351.

Dubey J.P. 2010. *Toxoplasmosis of animals and humans*. 2nd ed. CRC Press, Boca Raton. 313 p.

Dubey J.P., Jenkins M.C., Rajendran C., Miska K., Ferreira L.R., Martins J., Kwok O.C.H. & Choudhary S. 2011. Gray wolf (*Canis Lupus*) is a natural definitive host for *Neospora caninum*. *Vet. Parasitol.* 181 (2-4): 382-387.

Faine S., Adler B., Bolin C. & Perolat P. *Leptospira and leptospirosis*. 1999. 2^a ed. MediSci, Melbourne. 272 p.

Fernandes A.R.F., Fernandes A.G., Araújo V.J.A., Higinio S.S.S., Silva M.L.C.R., Alves C.J. & Azevedo S. S. 2013. Soroepidemiologia da leptospirose canina na região metropolitana de Natal, estado do Rio Grande do Norte. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 50 (3): 226-232.

Fontes A.M.M., Rufino C.A., Assunção T.M., Silva J.E.S., Belarmino D.A., Santos D.G., Lopes P.D. & Barbudo Filho J. 2013. *Ciên. Agr. Saúde.* 9: 21 – 25.

Fridlund-Plugge N., Montiani-Ferreira F., Richartz R.R.T.B., Pizzol J.D., Machado Jr P.C., Patrício L.F.L., Rosinelli A.S. & Locatelli-Dittrich R. 2008. Frequency of antibodies against *Neospora caninum* in stray and domiciled dogs from urban, periurban and rural areas from Paraná state, southern Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 7 (4): 222-226.

Genovez M.E. 2016. Leptospirose em Animais de Produção, p. 378-386. In: Megid J., Ribeiro. M.G. & Paes A.C. (Ed.), *Doenças Infecciosas em Animais de Produção e de Companhia*. Roca, São Paulo.

Gonçalez C.C., Paes A.C., Langoni H., Da Silva R.C., Greca H., Camossi L.G., Guimarães F.F. & Ullmann L.S. 2010. Anticorpos para *Leptospira* spp., *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em cães errantes albergados em canil privado. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 62 (4): 1011-1014.

Gondim L.F.P., McAllister M.M., Pitt W. C. & Zemlicka D.E. 2004. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.* 34 (2):159-161.

Greene C.E., Sykes J.E., Brown C.A., Hartman K. 2006. Leptospirosis, p.402-417. In: Greene, C.E. (Ed.) *Infectious diseases of the dog and cat*. 3rd ed. Elsevier, St. Louis.

Hosmer D.W. & Lemeshow S. 2000. *Applied logistic regression*. John Wiley & Sons, New York. 375 p.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. 2013. Estimativas da população residente nos municípios brasileiros com data de referência em 1º de julho de 2013. Brasília: IBGE; Disponível em: ftp://ftp.ibge.gov.br/Estimativas_de_Populacao/Estimativas_2013/nota_metodologica_2013.pdf. Acesso em: 10 out 2015.

Jesus E.E.V., Santos P.O.M., Barbosa M.V.F., Pinheiro A.M., Gondim L.F.P., Guimarães J.E. & Almeida M.A.O. 2006. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.* 43 (1): 5-10.

King J.S., Slapeta J., Jenkins D.J., Al-Qassab S.E., Ellis J.T. & Windsor P. A. 2010. Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. Int. J. Parasitol. 40 (8): 945-950.

Langoni H., Modolo J.R., Pezerico S.B., Silva R.C., Castro A.P.B., Da Silva A.V. & Padovani C.R. 2006. Serological profile of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in apparently healthy dogs of the city of Botucatu, São Paulo state, Brazil. J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. 12 (1): 142-148.

Lemos J.P., Melo C.B., Viegas S.A.R.A. 2010. Análise sorológica de *Leptospira* spp. em cães errantes no município de Aracaju. Rev. Cient. Eletrônica Med. Vet. 14 (1): 1-16.

Lobato J., Silva D.A.O., Mineo T.W.P., Amaral J.D.H.F., Silva Segundo G.R., Costa-Cruz J.M., Ferreira M. S., Borges A.S. & Mineo J.R. 2006. Detection of immunoglobulin G antibodies to *Neospora caninum* in humans: high Seropositivity rates in patients who are infected by human immunodeficiency virus or have neurological disorders. Clin. Vaccine Immunol. 13 (1): 84-89.

Lopes M.G., Mendonça I.L.; Fortes K.P., Amaku M., Pena H.F.J. & Solange Maria Gennari. 2011. Presence of antibodies against *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Leishmania infantum* in dogs from Piauí. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 20 (2): 111-114.

Magalhães D.F., Silva J.A.; Moreira E.C., Wilke V.M.L., Haddad J.P.A., Meneses J.N.C. 2006. Prevalência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em cães de Belo Horizonte, Minas Gerais, 2001 a 2002. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 58 (2): 167-174.

Magalhães V.C.S., Sicupira P.M.L., Gondim L.F.P. & Munhoz A.D. 2009. Frequência de anticorpos contra *Neospora caninum* em cães do município de Ilhéus, Bahia. Ci. Anim. Bras. 10 (1): 306-311.

Mascolli R., Soto F.R.M., Bernardi F., Ito F.H., Pinheiro S.R., Guilloux A.G.A., Azevedo S.S., Silva P.V., Gennari S.M., Fernandes A.R.F., Pena H.F.J. & Vasconcellos S.A. 2015. Seroprevalence and risk factors for toxoplasmosis and neosporosis in the dog population of Ibiúna, São Paulo, Brazil. Semin. Cienc. Agrar. 36 (6): 3777-3786.

Mascolli R., Soto F.R.M., Bernardi F., Ito F.H., Pinheiro S.R., Guilloux A.G.A., Azevedo S.S., Fernandes A.R.F., Keid L.B., Morais Z.M., Souza G.O. & Vasconcellos S.A. 2016. Prevalência e fatores de risco para a leptospirose e brucelose na população canina da Estância Turística de Ibiúna, São Paulo, Brasil. *Arq. Inst. Biol.* 83: 1-7.

McAllister M.M., Dubey J.P., Lindsay D.S., Jolley W.R., Wills R.A. & McGuire A. M. 1998. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.* 28(9): 1473-1478.

Mineo T.W.P., Silva D.A.O., Näslund K., Björkman C., Uggla A. & Mineo J. R. 2004. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* serological status of different canine populations from Uberlândia, Minas Gerais. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 56 (3): 414-417.

Moraes C.C.G., Megid J., Pituco E.M., Okuda L.H., Del Fava C., De Stefano E. & Crocci A.J. 2008. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães da microrregião da Serra de Botucatu, Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 17 (1): 1-6.

Morikawa V.M., Bier D., Pellizzaro M., Ullmann L.S., Paploski I.A.D., Kikuti M., Langoni H., Biondo A.W. & Molento M.B. 2015. Seroprevalence and seroincidence of *Leptospira* infection in dogs during a one-year period in an endemic urban area in Southern Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 48(1):50-55.

Moura A.B., Souza A.P.; Sartor A.A.; Bellato V.; Teixeira E.B. 2; Pisetta G.M. & Heusser Junior A. 2009. Ocorrência de anticorpos e fatores de risco para infecção por *Toxoplasma gondii* em cães, nas cidades de Lages e Balneário Camboriú, Santa Catarina, Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 18 (3): 52-56.

OIE 2014. Reference Laboratory Reports Activities. Disponível em: <http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Our_scientific_expertise/reflabreports/2014/report_204_2014_Leptospirosis_UNITED_KINGDOM.pdf> Acesso em: 01 ago. 2016.

Paes A.C. 2016. Leptospirose Canina, p. 356-377. In: Megid J., Ribeiro. M.G. & Paes A.C. (Ed.), *Doenças Infeciosas em Animais de Produção e de Companhia*. Roca, São Paulo.

Reichel M.P., Ayanequi-Alcérreca M.A., Gondim L.F.P. & Ellis J.T. 2013. What is the global economic impact of *Neospora caninum* in cattle - the billion dollar question. *Int. J. Parasitol.* 43 (2): 133-142.

Reichmann M.L.A.B., Pinto H.B.F. & Nunes V.P. 1999. Vacinação contra raiva de cães e gatos. Disponível em: <http://www.saude.sp.gov.br/resources/instituto-pasteur/pdf/manuais/manual_03.pdf> Acesso em 10 out. 2015.

Silva W.B., Simões L.B., Padovani C.R., Langoni H., Lopes A.L.S. & Modolo J.R. 2009. Inquérito sorológico e distribuição espacial da leptospirose canina em área territorial urbana da cidade de Botucatu, São Paulo. *Vet. e Zootec.* 16 (4): 656-668.

Silva R.C., Lima V.Y., Tanaka E.M., Silva A.V., Souza L.C. & Langoni H. 2010. Risk factors and presence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in dogs from the coast of São Paulo State, Brazil. *Pesq. Vet. Bras.* 30(2):161-166.

Silva R.C., Lima V.Y., Silva A.V., Souza L.C. & Langoni H. 2016. Seroepidemiological survey for canine leptospirosis in the coast of São Paulo state, Brazil. *Vet. e Zootec.* 23(3): 495-503.

Silva R.C. & Silva A.V. 2016. Toxoplasmose em Animais Domésticos, p. 1040-1053. In: Megid J., Ribeiro. M.G. & Paes A.C. (Ed.), *Doenças Infecciosas em Animais de Produção e de Companhia*. Roca, São Paulo.

Tesserolli G.L., Alberti J.V.A., Agottani J.V.B., Fayzano L. & Warth J.F.G. 2005. Soroprevalência para leptospirose em cães de Curitiba, Paraná. *Rev. Acad.* 3(4): 35-38.

Thrusfield M. 2007. *Veterinary epidemiology*. 3rd ed. Wiley-Blackwell, Oxford. 624 p.

Ullmann L.S., Guimarães F. F., Fornazari F., Tomé R.O., Camossi L.G., Greca H., Silva R.C., Menozzi B.D. & Langoni H. 2008. Ações de vigilância continuada, papel do cão como sentinela para toxoplasmose. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 17 (1): 345-347.

WHO 1990. Guidelines for dog population management. World Health Organization, Geneva. 120 p.

Zar J.H. 1999. Biostatistical analysis. 4th ed. Prentice Hall, Upper Saddle River. 663 p.

Legenda da Figura

Fig. 1. Distribuição geográfica dos municípios utilizados. A localização da Paraíba dentro do Brasil é mostrada no detalhe.

Quadro 1. Soropositividade para leptospirose, toxoplasmose e neosporose em cães do Estado da Paraíba, entre janeiro de 2013 a dezembro de 2014 no Estado da Paraíba.

Cidade	Número de cães		Leptospirose			Toxoplasmose			Neosporose		
	Total	Amostragem	Positivos	%	IC 95%	Positivos	%	IC 95%	Positivos	%	IC 95%
Sousa	6.843	125	19	15,2	8,4 – 21,5	41	32,8	24,6 – 41,0	39	31,2	23,1 – 39,3
Patos	10.553	206	16	7,7	4,1 – 11,4	29	14,0	9,6 – 18,8	12	5,8	2,6 – 9,0
João Pessoa	78.073	338	24	7,1	4,4 – 9,8	38	11,2	7,9 – 14,6	6	1,7	0,4 – 3,2
Cajazeiras	6.103	125	11	8,8	3,8 – 13,8	75	60,0	51,4 – 68,6	18	14,4	8,2 – 20,6
Campina Grande	40.291	249	27	10,8	7,0 – 14,7	48	19,3	14,4 – 24,2	5	2,0	0,9 – 4,6
Total	141.863	1.043	97	9,3	7,5 – 11,1	231	22,1	19,6 – 24,7	80	7,7	6,1 – 9,3

Quadro 2. Análise univariável dos fatores de risco associados à soropositividade para toxoplasmose, neosporose e leptospirose em 1.043 cães no período de janeiro de 2013 a dezembro de 2014, no Estado da Paraíba.

Variável/ Categoria	Número total de cães	Leptospirose		Toxoplasmose		Neosporose	
		Nº soropositivos (%)	P	Nº soropositivos (%)	P	Nº soropositivos (%)	P
Nível de escolaridade do proprietário							
Analfabeto	52	7 (13,5)		18 (34,6)		7 (13,5)	
1º grau	381	40 (10,5)		90 (23,6)		30 (7,9)	
2º grau	471	42 (8,9)		104 (22,1)		37 (7,9)	
3º grau	139	8 (5,8)	0,276	19 (13,7)	0,012*	6 (4,3)	0,194*
Sexo							
Macho	584	57 (9,8)		126 (21,6)		44 (7,5)	
Fêmea	459	40 (8,7)	0,638	105 (22,9)	0,669	36 (7,8)	0,945
Idade							
3 -12 meses	212	10 (4,7)		37 (17,5)		18 (8,5)	
13 - 48 meses	527	47 (8,9)		111 (21,1)		40 (7,6)	
> 48 meses	304	40 (13,2)	0,005*	83 (27,3)	0,021*	22 (7,2)	0,866
Raça							
Sem raça definida	764	82 (10,7)		174 (22,8)		58 (7,6)	
Com raça definida	279	15 (5,4)	0,012*	57 (20,4)	0,470	22 (7,9)	0,979
Tipo de criação							
Domiciliar	645	47 (7,3)		123 (19,1)		32 (5,0)	
Com acesso à rua	398	50 (12,6)	0,006*	108 (27,1)	0,003*	48 (12,1)	<0.001*
Alimentação							
Ração comercial	240	16 (6,7)		28 (11,7)		12 (5,0)	
Comida caseira	398	41 (10,3)		100 (25,1)		39 (9,8)	
Ração + comida	405	40 (9,9)	0,272	103 (25,4)	<0.001*	29 (7,2)	0,078*
Contato com cães							
Não	433	32 (7,4)		91 (21,0)		38 (8,8)	
Sim	610	65 (10,7)	0,093*	140 (23,0)	0,506	42 (6,9)	0,311
Contato com bovinos							
Não	952	87 (9,1)		221 (23,2)		69 (7,2)	
Sim	91	10 (11,0)	0,695	10 (11,0)	0,011*	11 (12,1)	0,147*
Contato com equídeos							
Não	1034	95 (9,2)		231 (22,3)		79 (7,6)	

Sim	9	2 (22,2)	0,201	0 (0,0)	0,220	1 (11,1)	0,514
Contato com gatos							
Não	728	65 (8,9)		139 (19,1)		59 (8,1)	
Sim	315	32 (10,2)	0,609	92 (29,2)	<0,001*	21 (6,7)	0,500
Contato com caprinos e ovinos							
Não	973	92 (9,5)		225 (23,1)		72 (7,4)	
Sim	70	5 (7,1)	0,667	6 (8,6)	0,007*	8 (11,4)	0,322
Contato com suínos							
Não	1032	96 (9,3)		229 (22,2)		80 (7,8)	
Sim	11	1 (9,1)	1,000	2 (18,2)	1,000	0 (0,0)	1,000
Contato com animais silvestres							
Não	844	74 (8,8)		192 (22,7)		68 (8,1)	
Sim	199	23 (11,6)	0,279	39 (19,6)	0,385	12 (6,0)	0,413
Ambiente							
Terra	267	23 (8,6)		56 (21,0)		18 (6,7)	
Cimento	401	33 (8,2)		89 (22,2)		32 (8,0)	
Terra + Cimento	375	41 (11,0)	0,391	86 (23,0)	0,840	30 (8,0)	0,804
Limpeza do ambiente							
Não	138	10 (7,2)		17 (12,3)		12 (8,7)	
Sim	905	87 (9,6)	0,463	214 (23,6)	0,004*	68 (7,5)	0,753
Vacina							
Não	182	18 (9,9)		34 (18,7)		12 (6,6)	
Sim	861	79 (9,2)	0,872	197 (22,9)	0,254	68 (7,9)	0,655
Passeio							
Não	717	71 (9,9)		161 (22,5)		55 (7,7)	
Sim	326	26 (8,0)	0,380	70 (21,5)	0,784	25 (7,7)	1,000
Viagem							
Não	1011	96 (9,5)		223 (22,1)		78 (7,7)	
Sim	32	1 (3,1)	0,353	8 (25,0)	0,858	2 (6,2)	1,000
Presença de ratos							
Não	936	90 (9,6)		222 (23,7)		76 (8,1)	
Sim	107	7 (6,5)	0,389	9 (8,4)	<0,001*	4 (3,7)	0,155*
Acesso a açudes							
Não	925	89 (9,6)		222 (24,0)		70 (7,6)	
Sim	118	8 (6,8)	0,405	9 (7,6)	<0,001*	10 (8,5)	0,869

* Variáveis selecionadas para a regressão logística múltipla ($P \leq 0,2$).

Quadro 3. Fatores de risco associados com a soropositividade para toxoplasmose, neosporose e leptospirose em 1.043 cães no período de janeiro de 2013 a dezembro de 2014, no Estado da Paraíba.

Fator de risco	Coefficiente de regressão	Erro Padrão	Wald	Odds ratio (OR)	IC 95%	P
Leptospirose^a						
Idade > 48 meses	1,072	0,368	8,490	2,92	1,42 – 6,01	0,004
Raça não definida	0,663	0,296	5,027	1,94	1,08 – 3,46	0,025
Criação com acesso à rua	0,457	0,219	4,349	1,57	1,02 – 2,42	0,037
Toxoplasmose^b						
Idade > 48 meses	0,556	0,226	6,061	1,74	1,12 – 2,71	0,014
Comida caseira	0,808	0,238	11,553	2,24	1,40 – 3,57	0,001
Ração + comida caseira	0,852	0,234	13,289	2,34	1,48 – 3,70	<0.001
Contato com gatos	0,451	0,161	7,891	1,57	1,14 – 2,15	0,005
Neosporose^c						
Criação com acesso à rua	0,966	0,238	16,492	2,62	1,64 – 4,18	<0.001

Teste de Hosmer e Lemeshow: ^a Qui-quadrado = 3,773/P = 0,806; ^b Qui-quadrado = 2,939/P = 0,891; ^c Qui-quadrado = 0,841/P = 0,933

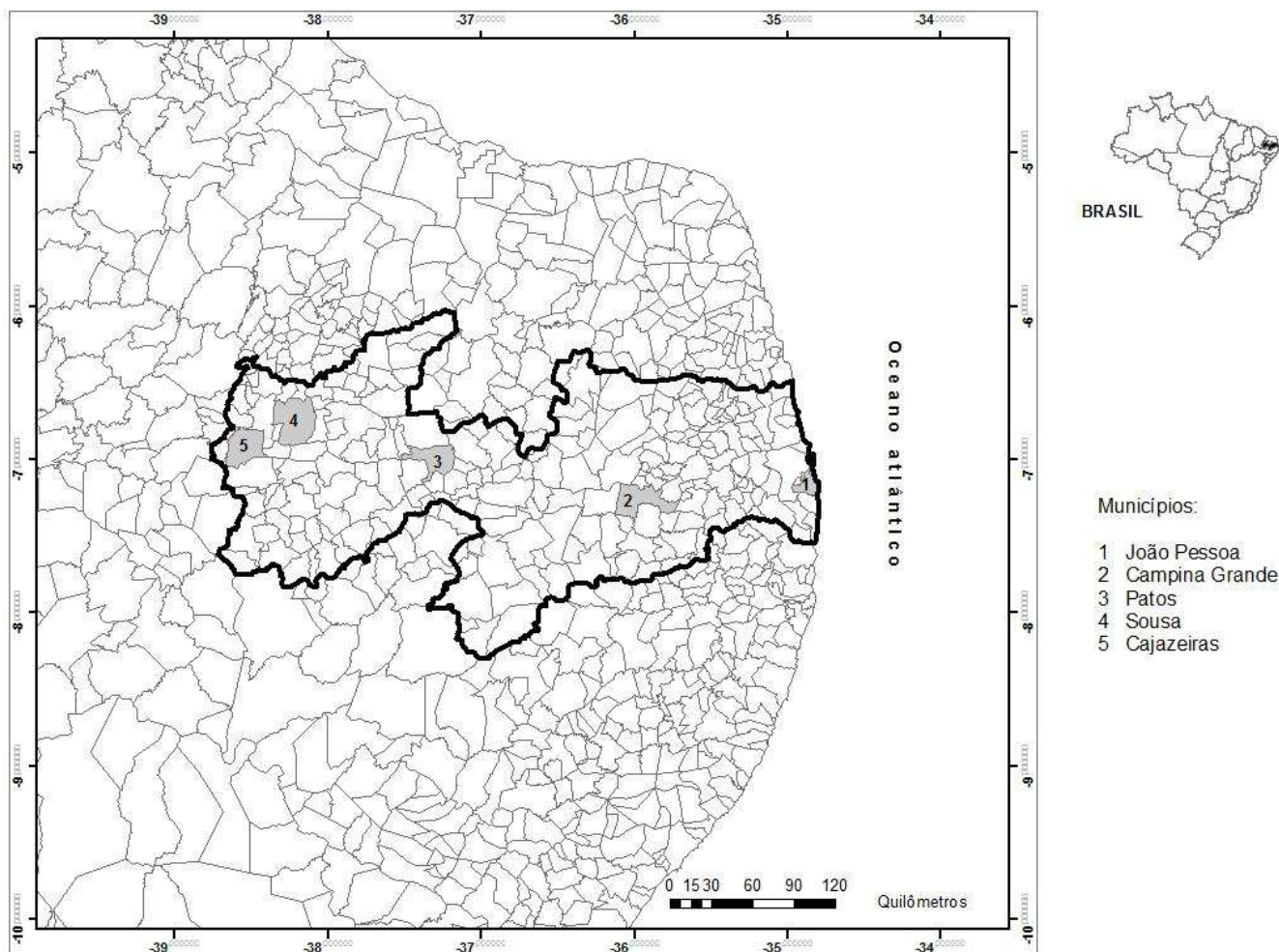


Fig. 1

5. CAPÍTULO III

OCORRÊNCIA E FATORES DE RISCO PARA ZOONOSES EM CÃES E PROPRIETÁRIOS NO SERTÃO DA PARAÍBA, NORDESTE DO BRASIL

“Occurrence and risk factors of zoonoses in dogs and owners in the sertão of Paraíba, northeastern Brazil”

(Short communication)

Trabalho submetido à Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical Jaboticabal – SP. Qualis B1-JCR 0,926. Manuscrito em inglês.

OCCURRENCE AND RISK FACTORS OF ZONOSSES IN DOGS AND OWNERS IN THE SERTÃO OF PARAÍBA, NORTHEASTERN BRAZIL

Annielle Regina da Fonseca Fernandes^[1], Diego Figueiredo da Costa^[1], Kamila Nunes de Araújo^[2], Raizza Barros Sousa Silva^[3], Marcia Almeida Melo^[3], Hélio Langoni^[4], Clebert José Alves^[1], Sérgio Santos Azevedo^{[1]*}

[1] Laboratório de Doenças Transmissíveis, Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Patos, PB, Brasil.

[2] Médica Veterinária Autônoma, Laboratório de Análises Clínicas VET LAB, Patos, PB, Brasil.

[3] Laboratório de Biologia Molecular do Semiárido, Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Patos, PB, Brasil.

[4] Laboratório de Zoonoses, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Botucatu, SP, Brasil.

* **Corresponding author:** Sérgio Santos Azevedo. Laboratório de Doenças Transmissíveis, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Av. Universitária, s/n, Santa Cecília, CEP 58700-970, Patos, PB, Brasil. e-mail: sergio@vps.fmvz.usp.br

ABSTRACT

Introduction: Antibodies and risk factors for Visceral Leishmaniasis, Chagas Disease, Toxoplasmosis and Leptospirosis were investigated in dogs and owners in the Sertão of Paraíba, Brazil. **Methods:** Serum samples of 200 dogs were analyzed by IFAT, ELISA and MAT. Of the seropositive animals, the owners were tested for the same diseases through IFAT, CMIA and ELISA. **Results:** A frequency of 6%, 7.5%, 18% and 14% was obtained for Visceral Leishmaniasis, Chagas' Disease, Toxoplasmosis and Leptospirosis respectively. Anti-*Toxoplasma gondii* antibodies have also been found in the human population. **Conclusions:** Results indicate that such zoonoses are present in dogs and owners of the locality.

Keywords: Dogs. Owners. Zoonoses

Dogs are increasingly inserted in society, occupying special places within the family environment. This growing importance attached by society requires that great attention should be given to the health of these animals, especially with regard to those diseases which are naturally transmissible between animals and humans, zoonosis. In many cases, in these diseases, the animals are apparently healthy, such as visceral leishmaniasis (CVL), Chagas disease (CD), toxoplasmosis and leptospirosis, becoming important sources of infection especially through close and prolonged contact with human beings, especially since dogs can have a long lifespan. It is worth emphasizing the importance of studying these diseases in the canine species to evaluate the degree of dissemination of these diseases in a given community.

CVL and CD are important zoonotic diseases in our country that can produce significant organic disorders in humans. These diseases are caused by the protozoans *Leishmania chagasi* and *Trypanosoma cruzi*, respectively, have both hematophagous insects (*Lutzomyia spp.* and *Triatoma spp.*), and wild and domestic canids are the main reservoirs of these parasites ⁽¹⁾.

Toxoplasmosis, a zoonotic disease worldwide caused by *Toxoplasma gondii*, has as its final hosts domestic and wild cats, which can infect humans and other homeothermic animals. Dogs are considered a potential risk for the transmission of the agent, since although this species is not indicated as a definitive host for the protozoan, it acts as a mechanical carrier of the oocysts, becoming sentinels for the infection ⁽²⁾.

Leptospirosis, an infectious-contagious disease caused by pathogenic bacteria of the genus *Leptospira*, is among the most common and worrisome zoonoses in the world, due to the wide spectrum of infection and spread of bacteria on all continents. As the most prevalent serovars in humans are Icterohaemorrhagiae and Canicola, it is observed that in addition to the synanthropic rodents, dogs, among domestic animals, play an important role in infection by the fact that this species excretes live leptospores through the urine for long periods, usually showing not clinical signs of the disease ⁽³⁾.

The use of sentinel animals as indicators of public health problems results in obtaining important information, as well as the identification of endemic areas, environmental risk factors, emerging and reemerging diseases as well as the risk of new outbreaks of some diseases ⁽⁴⁾. Thus, the monitoring and control of zoonoses by means of serum-epidemiological surveys for each geographical location is necessary, since it provides the bodies responsible for the structuring and directing of new public policies, aiming the strengthening public health in general. The objective of this work is to

determine the epidemiological situation of CVL, CD, Leptospirosis and Toxoplasmosis in dogs in the sertão of Paraíba and subsequent positivity in humans contacting positive dogs, aiming to verify if the possession of pets constitutes risk of infection for such diseases.

For the study in the animals, this work was approved by the Committee of Ethics in the Use of Animals (CEUA / CESED), Faculty of Medical Sciences of Campina Grande (FCM), under code 0041/280314. For the research in humans, it was approved by the Ethics and Research Committee of the University Hospital Alcides Carneiro of the Federal University of Campina Grande (CEP / HU / UFCG) under the number 1707230.

The participating locality of the experiment was the municipality of Brejo do Cruz, located in the state of Paraíba 420 km away from the capital João Pessoa, with a population estimated for 2016 of 14,006 inhabitants distributed in an area of 399 km². The choice of the municipality to conduct this research is due to the constant human cases for visceral leishmaniasis and toxoplasmosis in recent years, including children and pregnant women (cases confirmed and recorded in the SINAN Notification System).

It was used 200 dogs over three months old from visits to the homes of their owners. The area of the municipality included different neighborhoods, with distinct locations, in equidistant points. From December 2014 to October 2015, blood samples were collected by puncture of the external jugular, cephalic or saphenous veins without anticoagulant and at the time of collection the owners of the dogs answered an epidemiological questionnaire designed to provide data in order to verify the absence or presence of some practices and conditions that could act as possible risk factors for the appearance of such zoonoses. The samples were then centrifuged to obtain the serum and stored at -20°C for subsequent serological diagnosis. The blood collection in the contacting humans, only with written permission of the individual, was performed after cephalic vein asepsis by a biomedical or biochemical pharmacist, using 10 mL disposable syringes. The collected material was conditioned in tubes and kept at room temperature to obtain the serum that was frozen at -20 ° C until the serological tests were carried out.

In dogs, for CVL, CD and toxoplasmosis the indirect immunofluorescence reaction (IFAT) was done ⁽⁵⁾ ⁽⁶⁾. Samples were first examined at 1:40 (Leishmaniasis), 1:40 (Chagas disease) and 1:16 (toxoplasmosis) cutoff dilutions, and those with positive result were titrated to their final title. For the leishmaniasis, the samples were submitted to the ELISA S7 test following the recommendations of the manufacturer (Biogene Indústria & Comercio Ltda., Recife, PE, Brazil). For leptospirosis the microscopic

agglutination test (MAT) was used, with a collection of live antigens that included 18 serovars of leptospira: Australis, Autumnalis, Bratislava, Bataviae, Canicola, Castellonis, Cynopteri, Copenhageni, Djasiman, Grippytyphosa, Guaricura, Hardjoprajitno, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Pomona, Sejroe, Tarassovi, Wolffi.

In the owners, the serological diagnosis of leishmaniasis was carried out by the IFAT. In the study of antibodies to Chagas' disease, the Chemiluminescent Microparticle Immunoassay (CMIA) and IFAT were used. For the diagnosis of leptospirosis the ELISA was performed. Antibodies to *T. gondii* were screened through CMIA. All analyzes were performed in a private laboratory.

With the data collected from the epidemiological questionnaires applied to the owners, the analysis of risk factors composed of two steps was performed: univariate analysis and multivariate analysis. In the univariate analysis, two groups of animals were formed - seropositive and seronegative - that were compared to the variables analyzed. Those variables that presented a value of $p \leq 0.2$ by the chi-square test or Fisher's exact test ⁽⁷⁾ were selected for multivariate analysis using multiple logistic regression ⁽⁸⁾. The level of significance adopted in the multiple analysis was 5%. All analyzes were performed with the SPSS 20.0 for Windows program.

Of the 200 animals studied 12 were seropositive for visceral leishmaniasis, 15 for Chagas disease, 36 for toxoplasmosis and 28 for leptospirosis, resulting in a prevalence of 6%, 7.5%, 18% and 14%, respectively. Table 1 shows the results of the univariate analysis of the data and in Table 2 the risk factors identified by logistic regression.

Regarding the distribution of antibody titers to CVL, three dogs had title 40, four with title 80, one with title 160, two with title 320 and two animals with 640 titers. In logistic regression, the variables for age over 6 years and environment where the animal lives (on soil) were identified as risk factors for *L. chagasi* infection. Previous studies have demonstrated a variable prevalence of canine disease in addition to corroborating in the aspect related to the age group inferring that leishmaniasis is more described in adult dogs due to the long period of incubation of the parasite and the longer time of exposure to the vector ⁽⁹⁾. The soil environment was also verified as a risk factor previously in dogs from Paraíba ⁽¹⁰⁾, showing that in these sites, besides being difficult to clean, promoting a certain accumulation of biological material, there is also a contribution to the appearance of other animals to the enclosure, such as rodents, creating, in this way a favorable habitat the multiplication of the vector, that uses of this organic material for the deposition of the eggs.

For CD, seven dogs, one and seven presented 40, 320 and 640 titles, respectively. The variable loose creation was considered a risk factor for *T. cruzi* infection, reinforcing the question of strengthening the peri-domestic cycle of the disease ⁽¹⁰⁾, once after the elimination of disease transmission by the main vector *Triatoma infestans* in Brazil, other *Triatoma* species are in the process of urbanization and domiciliation, also exposing both dogs and humans.

In the Toxoplasmosis serology, of the 36 seropositive animals, 20 presented title 16, 12 with title 64, three with title 256 and one with title 1024. Variables such as loose breeding and contact with cats were identified as risk factors after logistic regression. The variable contact with cats is strongly related to the epidemiology of the disease that presents the feline species as the definitive host and agent for the dissemination of *T. gondii* in the environment. Free creation has also been established as a risk factor in other studies confirming the importance of contamination of the external environment at home as a propitiator of higher rates of *T. gondii* infection ⁽¹¹⁾.

For leptospirosis, there were predominant serovars Icterohaemorrhagiae (12/28), Pomona (5/28), Grippotyphosa (4/28), Canicola (2/28), Autumnalis (2/28), Cynopteri (1/28), Tarassovi (1/28) and Wolfii (1/28) with titles ranging from 100 to 800. Diet based on commercial food was pointed as a risk factor, suggesting inadequate storage of the food favoring the appearance and maintenance of possible reservoirs of leptospira⁽¹²⁾.

Mixed reactivity was found as follows: three seropositive animals for CVL and CD, three seropositive animals for CVL, CD and toxoplasmosis and two seropositive animals for CD and toxoplasmosis. Some studies suggest that immunosuppression caused by *Leishmania* sp. could increase the susceptibility of dogs to other agents such as *T. gondii* ⁽¹³⁾. It is worth mentioning that in South America there are areas that are endemic for CVL and CD, with high possibility of mixed infections ^{(1) (10)}.

Of the human contactors, 23 accepted to participate in the research where eight were tested for leishmaniasis, three for Chagas disease, nine for toxoplasmosis and 11 for leptospirosis. Five individuals were tested for more than one disease. Of the people tested for toxoplasmosis, four were seropositive resulting in a frequency of 44.4%. For all other diseases, all individuals were negative.

In order to evaluate the zoonotic potential of canine populations, the dog has been used several times as a sentinel event to investigate the occurrence and risk factors associated with the diseases. Previous studies have shown that some canine habits such as rolling or ingesting feline stools increase the risk of contamination of the home

environment by exposing owners to disease ⁽¹⁴⁾. However, there are few studies on the frequency of toxoplasmosis in dogs and humans ⁽¹⁵⁾. In the present study, toxoplasmosis was the disease with the highest number of positive dogs and although the prevalence was considered low, it was possible to evidence the frequency of the disease in the owners. Information on the prevalence of toxoplasmic infection in the canine population is an indicator of domestic environmental contamination and possible risk to humans, since human and canine exposures occur in the presence of a common source of infection ⁽¹⁴⁾.

With the results obtained it can be inferred that the four zoonoses are present in the studied municipality, and it is alerted to the possibility of infection in the man, once antibodies were found for toxoplasmosis. Based on the analysis of risk factors, it is suggested that greater care should be taken with land environments where dogs are raised, avoiding free breeding, and paying attention to the storage of the food offered to the animals.

ACKNOWLEDGMENT

To the biochemical pharmacist Huarandir Nunes dos Santos and to the biomedical Mariana Santiago da Costa for the collection of blood samples in humans. To CAPES for the doctorate grant awarded.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interest.

REFERENCES

1. Luciano RM, Lucheis SB, Troncarelli MZ, Luciano DM, Langoni H. Avaliação da reatividade cruzada entre antígenos de *Leishmania* spp e *Trypanosoma cruzi* na resposta sorológica de cães pela técnica de imunofluorescência indireta (RIFI). J Vet Res Anim Sci 2009; 46(3): 181-187.
2. Ullmann LS, Guimarães FF, Fornazari F, Tomé RO, Camossi LG, Greca H, et al. Ações de vigilância continuada, papel do cão como animal sentinela para Toxoplasmose. Brazil J Vet Parasitol Vet. 2008; 17 (supl 1): 345-347.
3. Lilenbaum W, Vargês R, Moraes IA, Ferreira AMR, Pissinatti A. Leptospiral antibodies in captive lion tamarins (*Leontopithecus* sp) in Brazil. Vet J 2005. 169: 462-464.

4. De Nardo P. Veterinary environmental epidemiology the case of respiratory pathology in the dog. *Ann Ist Super Sanita* 1997; 33 (4): 587-593.
5. Camargo ME. Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1964. 6: 17-118.
6. Camargo ME. Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of American trypanosomiasis: technical modification employing preserved culture forms of *Trypanosoma cruzi* in a slide test. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1966; 8(5): 227-235
7. Zar JH. *Biostatistical analysis*. 4th ed. Upper Saddle River: Prentice Hall; 1999.
8. Hosmer DW, Lemeshow S. *Applied logistic regression*. New York: John Wiley & Sons; 2000.
9. Almeida ABPF, Mendonça AJ, Sousa VRF. Prevalência e epidemiologia da leishmaniose visceral em cães e humanos, na cidade de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. *Ciênc Rural* 2010; 40 (7): 1610-1615.
10. 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. *Braz J Vet Parasitol* 2016; 25 (1): 90-98.
11. Cañón-Franco WA, Bergamaschi DP, Labruna MB, Camargo LM, Silva JC, Pinter A, et al. Occurrence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in dogs in the urban area of Monte Negro, Rondônia, Brazil. *Vet Res Commun* 2004; 28 (2):113-118.
12. Aguiar DM, Cavalcante GT, Marvulo MFV, Silva JCR, Pinter A, Vasconcellos SA, et al. Fatores de risco associados à ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em cães do município de Monte Negro, Rondônia, Amazônia Ocidental Brasileira. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2007; 59(1):70-76.
13. Gennari SM, Cañón-Franco WA, Feitosa MM. Presence of anti-*Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in dogs with visceral leishmaniosis from the region of Araçatuba, São Paulo, Brazil. *Braz J Vet Res Anim Sci* 2006; 43(5): 613-619.
14. Langoni H, Modolo JR, Pezerico, SB. Serological profile of anti- *Toxoplasma gondii* in apparently healthy dogs of the city of Botucatu, São Paulo state, Brazil. *J. Venom Anim Toxins Incl Trop Dis* 2006; 12(1); 142-148.
15. Thaís Rabelo dos SANTOS. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos leiteiros, cães e trabalhadores rurais da região Sudoeste do Estado de Mato Grosso. [Masters dissertation]. [São Paulo]: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”; 2008. 86 p.

TABLE 1 - Univariate analysis of the risk factors associated with seropositivity visceral leishmaniasis, Chagas disease, toxoplasmosis and leptospirosis in 200 dogs from December 2014 to October 2015, in Sertão of Paraíba, Brazil.

Variable/ Category	Total number of dogs	Leishmaniasis		Chagas disease		Toxoplasmosis		Leptospirosis	
		Positive dogs (%)	<i>P</i>	Positive dogs (%)	<i>P</i>	Positive dogs (%)	<i>P</i>	Positive dogs (%)	<i>P</i>
Level of education of the owner									
Illiterate	15	0 (0,0)		2 (13,3)		4 (26,7)		0 (0,0)	
1 st degree	42	3 (7,1)		2 (4,8)		12 (28,6)		0 (0,0)	
2 nd degree	124	8 (6,5)		11 (8,9)		18 (4,5)		24 (19,4)	
3 rd degree	19	1 (5,3)	0,773	0 (0,0)	0,382	2 (10,5)	0,128*	4 (21,1)	0,005*
Gender									
Male	114	8 (7,0)		9 (7,9)		19 (16,7)		14 (12,3)	
Female	86	4 (4,7)	0,691	6 (7,0)	1,000	17 (19,8)	0,705	14 (16,3)	0,548
Age									
3 - 12 months	69	3 (4,3)		7 (10,1)		8 (11,6)		14 (20,3)	
13 - 48 months	81	3 (3,7)		3 (3,7)		18 (22,2)		10 (12,3)	
49 - 72 months	30	2 (6,7)		2 (6,7)		3 (10,0)		2 (6,7)	
> 72 months	20	4 (20,0)	0,045*	3 (15,0)	0,258	7 (35,0)	0,044*	2 (10,0)	0,255
Condition of housing									
Domiciled	123	9 (7,3)		9 (7,3)		13 (10,6)		20 (16,3)	
Semi-domiciled	64	1 (1,6)		2 (3,1)		17 (26,6)		7 (10,9)	
Free	13	2 (15,4)	0,098*	4 (30,8)	0,003*	6 (46,2)	0,001*	1 (7,7)	0,484
Dog food									
Commercial	76	6 (7,9)		4 (5,3)		7 (9,2)		16 (21,1)	
Homemade	55	2 (3,6)		5 (9,1)		14 (25,5)		3 (5,5)	
Commercial+ homemade	69	4 (5,8)	0,596	6 (8,7)	0,641	15 (21,7)	0,035*	9 (13,0)	0,038*
Contact with other dogs									
No	104	7 (6,7)		8 (7,7)		13 (12,5)		15 (14,4)	
Yes	96	5 (5,2)	0,877	7 (7,3)	1,000	23 (24,0)	0,054*	13 (13,5)	1,000
Contact with bovine									
No	199	12 (6,0)		15 (7,5)		35 (17,6)		27 (13,6)	
Yes	1	0 (0,0)	1,000	0 (0,0)	1,000	1 (100,0)	0,180*	1 (100,0)	0,140*
Contact with horses									
No	199	12 (6,0)		15 (7,5)		35 (17,6)		27 (13,6)	

Yes	1	0 (0,0)	1,000	0 (0,0)	1,000	1 (100,0)	0,180*	1 (100,0)	0,140*
Contact with cats									
No	180	11 (6,1)		14 (7,8)		28 (15,6)		26 (14,4)	
Yes	20	1 (5,0)	1,000	1 (5,0)	1,000	8 (40,0)	0,013*	2 (10,0)	0,746
Contact with goat/sheep									
No	199	12 (6,0)		15 (7,5)		35 (17,6)		27 (13,6)	
Yes	1	0 (0,0)	1,000	0 (0,0)	1,000	1 (100,0)	0,180*	1 (100,0)	0,140*
Contact with wild animals									
No	177	12 (6,8)		14 (7,9)		31 (17,5)		28 (15,8)	
Yes	23	0 (0,0)	0,367	1 (4,3)	1,000	5 (21,7)	0,573	0 (0,0)	0,050*
Environmental conditions									
Soil	47	6 (12,8)		3 (6,4)		10 (21,3)		8 (17,0)	
Cement	153	6 (3,9)	0,036*	12 (7,8)	1,000	26 (17,0)	0,652	20 (13,1)	0,658
Environmental hygiene									
No	8	0 (0,0)		1 (12,5)		3 (37,5)		0 (0,0)	
Yes	192	12 (6,2)	0,976	14 (7,3)	0,455	33 (17,2)	0,157	28 (14,6)	0,377
Vaccine									
Não	24	1 (4,2)		2 (8,3)		3 (12,5)		3 (12,5)	
Sim	176	11 (6,2)	1,000	13 (7,4)	0,979	33 (18,7)	0,580	25 (14,2)	1,000
Walk the dog									
Não	125	11 (8,8)		12 (9,6)		22 (17,6)		12 (9,6)	
Sim	75	1 (1,3)	0,033*	3 (4,0)	0,239	14 (18,7)	1,000	16 (21,3)	0,035*
Traveling with the dog									
No	191	12 (6,3)		15 (7,9)		35 (18,3)		25 (13,1)	
Yes	9	0 (0,0)	1,000	0 (0,0)	1,000	1 (11,1)	1,000	3 (33,3)	0,116*
Presence of rodents									
No	188	12 (6,4)		15 (8,0)		35 (18,6)		25 (13,3)	
Yes	12	0 (0,0)	1,000	0 (0,0)	0,605	1 (8,3)	0,698	3 (25,0)	0,381

* Variables selected for the multiple analysis ($p \leq 0.2$); p: probability of casual occurrence. Source: Elaboration of the authors.

TABLE 2 - Risk factors associated with seropositivity for visceral leishmaniasis, Chagas disease, toxoplasmosis and leptospirosis in 200 dogs from December 2014 to October 2015, in Sertão of Paraíba, Brazil.

Risk factor	Regression coefficient	Standard error	Wald	Odds ratio (OR)	IC 95%	P
Leishmaniasis						
Age > 72 months	2,199	0,860	6,542	9,01	1.67 – 48.59	0.011
Environmental condition (soil)	1,509	0,662	5,197	4.52	1.23 – 16.54	0.023
Chagas disease						
Free housing	0,895	0,798	7,843	13.77	2.19 – 86.38	0.005
Toxoplasmosis						
Free housing	1,127	0,413	7,456	3.09	1.37 – 6.93	0.006
Contact with cats	1,127	0,535	4,432	3.09	1.08 – 8.81	0.035
Leptospirosis						
Commercial dog food	1,531	0,657	5,428	4,62	1,27 – 16,75	0,020

95% CI: 95% confidence interval; probability of casual occurrence. Source: Elaboration of the authors.

6. CONCLUSÕES

Resumidamente, os três artigos que compõem a presente tese levaram às seguintes conclusões:

- Foram detectados anticorpos para *Leishmania* spp., *Trypanossoma cruzi*, *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* e *Leptospira* spp. na população canina de cinco centros urbanos no Estado da Paraíba, Brasil.
- Cães soropositivos para *Leishmania* spp., *Trypanossoma cruzi*, *Toxoplasma gondii* e *Leptospira* spp. também foram observados em município localizado na mesorregião do Sertão paraibano e com histórico de casos de leishmaniose visceral e toxoplasmose em humanos, bem como foram encontrados anticorpos anti-*T. gondii* nos proprietários dos cães.
- Com base nas análises de fatores de risco, sugere-se maiores cuidados com as condições de habitação, melhores condições de limpeza dos ambientes de terra onde são criados os cães e destino adequado das fezes dos gatos contactantes, bem como controlar o acesso dos cães à rua, melhorar o manejo alimentar dos animais evitando alimentos crus ou mal cozidos e quando da opção de ração comercial atentar para o correto armazenamento da mesma.
- Sugere-se uma revisão e intensificação das medidas de controle das doenças através de monitoramento constante pelas autoridades competentes.

ANEXOS

Anexo 1: Questionário epidemiológico aplicado aos proprietários durante as coletas de sangue.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
DOUTORADO
PROJETO: CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DE ZOONOSES NO ESTADO DA
PARAÍBA**

QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO Nº _____

1. DADOS DO PROPRIETÁRIO			
Nome:			
Endereço:			
Cidade:			
Telefone:			
Grau de escolaridade: <input type="checkbox"/> 1º Grau incompleto <input type="checkbox"/> 1º grau completo <input type="checkbox"/> Analfabeto <input type="checkbox"/> 2º grau incompleto <input type="checkbox"/> 2º grau completo <input type="checkbox"/> 3º Grau incompleto <input type="checkbox"/> 3º Grau completo			
2. DADOS DO ANIMAL			
Nome:			
Como adquiriu o animal?			
Sexo: <input type="checkbox"/> Macho <input type="checkbox"/> Fêmea			
Idade : <input type="checkbox"/> 3 – 6 meses <input type="checkbox"/> 7 – 12 meses <input type="checkbox"/> 13 – 24 meses <input type="checkbox"/> 25 – 48 meses <input type="checkbox"/> 49 – 72 meses <input type="checkbox"/> acima de 6 anos			
Raça: <input type="checkbox"/> Sem raça definida <input type="checkbox"/> Com raça definida/Qual?			
3. MANEJO			
Tipo de criação: <input type="checkbox"/> Domiciliar <input type="checkbox"/> Semi-domiciliar <input type="checkbox"/> Solto			
Alimentação : <input type="checkbox"/> Ração comercial <input type="checkbox"/> Alimento preparado em casa <input type="checkbox"/> Restos de comida			
Tem contato com outros animais? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO			
Se tem, quais são? <input type="checkbox"/> Cães <input type="checkbox"/> Bovinos <input type="checkbox"/> Equídeos <input type="checkbox"/> Silvestres <input type="checkbox"/> Gatos <input type="checkbox"/> Caprinos <input type="checkbox"/> Ovinos <input type="checkbox"/> Suínos			
Qual o ambiente onde o animal é criado? <input type="checkbox"/> terra <input type="checkbox"/> cimento <input type="checkbox"/> terra/cimento			
É realizada limpeza ou desinfecção do local? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO			
Com que frequência? <input type="checkbox"/> Diária <input type="checkbox"/> Semanal <input type="checkbox"/> Quinzenal <input type="checkbox"/> Mensal			
O animal tomou alguma vacina? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO			
Se sim, quais?			
Costuma passear com o animal? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO			
Quando viaja, leva-o junto? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO			
Há quanto tempo viajou?			Local:
4. OUTRAS INFORMAÇÕES			
Ocasionalmente, há ratos em sua residência? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO			
O animal tem contato com açudes, áreas alagadas? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO			
5. Condição geral do animal (Sinais clínicos notáveis)			

OBRIGADA PELA COLABORAÇÃO!

Anexo 2: Termo de consentimento de livre e esclarecido (TCLE) assinado pelos proprietários autorizando a colheita de sangue.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS – PB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
DOUTORADO**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O (a) Senhor(a) está sendo convidado(a) a participar da pesquisa intitulada CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DE ZOONOSES NO ESTADO DA PARAÍBA, sob a responsabilidade da pesquisadora Annielle Regina F. Fernandes, doutoranda em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, e-mail: anni.regina@gmail.com e celular 99957-5820.

Devido à importância dada pela sociedade aos animais de companhia, uma grande atenção deve ser voltada para a saúde desses animais, especialmente no que diz respeito àquelas doenças transmissíveis entre animais e seres humanos, as zoonoses. Em muitos casos, nessas doenças, os animais encontram-se aparentemente saudáveis, tornando-se portanto, importantes fontes de infecção especialmente porque são animais que vivem muitos anos.

Dessa forma, o objetivo dessa pesquisa é analisar cães e proprietários sobre 4 zoonoses: Leishmaniose ou Calazar, Doença de Chagas, Leptospirose, e Toxoplasmose. Inicialmente, de acordo com a assinatura desse termo, o (a) senhor (a) estará autorizando a nossa equipe a pegar uma amostra do seu sangue para participar deste projeto e sangue de seu cãozinho. Alertamos que pelo ato da picada da agulha poderá haver um certo desconforto no local da coleta de sangue. Durante a visita ainda será feito um questionário sobre como é o manejo do seu animal.

As amostras de sangue serão encaminhadas para o Laboratório Central de Saúde Pública do Estado da Paraíba (LACEN-PB), Laboratório de Biologia Molecular do Semi-árido e Laboratório de Doenças Transmissíveis pertencentes à Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária da UFCG/Campus de Patos, onde serão realizados os testes para o diagnóstico das referidas doenças.

Acreditamos que, com esta pesquisa, poderemos esclarecer melhor sobre a existência dessas doenças em nossa região e avaliar até que ponto os animais possam oferecer algum risco à saúde humana.

As informações que o Sr(a) nos dará serão utilizadas apenas para a pesquisa e poderão ser divulgadas em eventos e publicações científicas. Seu nome não estará escrito em ficha alguma e não serão divulgados, bem como outro dado que possa lhe identificar.

Informamos que o Sr (a) receberá uma 2ª "via" deste Termo de Consentimento.

Esta pesquisa foi apreciada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEP/ HUAC) localizado na Rua Dr. Carlos Chagas, s/n, São José. Campina Grande- PB. Telefone: (83) 2101-5545.

Se houver dúvidas em relação aos aspectos éticos ou denúncias o Sr(a) poderá consultar o CEP (Comitê de Ética e Pesquisa) do Centro de Saúde e Tecnologia Rural /UFCG, Avenida Universitária S/N - Bairro Santa Cecília - Cx Postal 61 - Patos/PB CEP:58708-110, telefone: (83) 3511-3000, e-mail: cstr@cstr.ufcg.edu.br. De: Segunda a Sexta-feira das 08h às 12:00h e das 14:00h às 17:30h.

Desta forma, uma vez tendo lido e entendido tais esclarecimentos e, por estar de pleno acordo com o teor do mesmo, dato, rubrico e assino este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Brejo do Cruz-PB, _____ de _____ de _____.

Pesquisador responsável

Voluntário/Participante

Assinatura da Testemunha

OBS: (em caso de analfabeto)

Endereço do Pesquisador Responsável: Rua José Dutra de Moraes, 576, Centro, Brejo do Cruz-PB

Telefone para contato: (83) 99957-5820

Anexo 3: Instruções aos autores para publicações na Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária.

Instruções aos Autores

Brazilian Journal of Veterinary Parasitology
Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária

Apresentação

A Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária é um órgão oficial de divulgação do Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária (CBPV). Tem como objetivo publicar temas relativos a Helminthos, Protozoários, Artrópodes e Rickettsias bem como assuntos correlatos. A revista tem periodicidade trimestral. São aceitas submissões de manuscritos, em inglês, de pesquisadores de qualquer país, associados ou não ao CBPV. Este periódico oferece a todos os pesquisadores acesso eletrônico livre para consulta de todos os trabalhos, desde seu primeiro volume publicado em 1992.

Política Editorial

Os artigos submetidos à Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária deverão caracterizar-se como científicos e originais, essencialmente sobre parasitas de animais em geral.

O(s) autor(res) deverá(ão) anexar uma carta, previamente assinada, responsabilizando-se pela originalidade do artigo, salvo resumo(s) apresentado(s) em eventos científicos, não submetidos à publicação em outros periódicos. Trabalhos com mais de uma autoria deverão seguir com uma declaração de concordância de todos os autores, referente à publicação. Trabalhos com número excessivo de autores deverão ser avaliados pelos editores científicos assistentes, em relação ao protocolo experimental. É necessária a colaboração substancial de todos os autores no planejamento do estudo, obtenção, análise e interpretação de resultados, confecção do artigo e aprovação da versão final submetida e aceita. Colaboradores que não tiveram participação ativa em todo o processo descrito acima poderão ser listados na seção de agradecimentos. Poderá haver agradecimento ao pesquisador que forneceu auxílio técnico, correção ou sugestão na escrita, ou ao chefe de departamento que proporcionou infraestrutura para elaboração do trabalho. O processo de avaliação do trabalho dependerá da observância das Normas

Editoriais, dos Pareceres do Corpo Editorial e/ou do Relator ad-hoc. Nesse processo, o editor-chefe e os editores científicos assistentes poderão sugerir ou solicitar as modificações necessárias, apesar de ser de responsabilidade dos autores os conceitos emitidos. Os artigos submetidos serão avaliados por, no mínimo, 3 revisores anônimos, selecionados pelo editor-chefe e editores científicos assistentes. A Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária atribui a seus artigos as categorias de: Artigos Completos, Notas de Pesquisa e Artigos de Revisão, sendo este último escrito por especialistas e condicionado a solicitação por convite do editor-chefe. Revisões não solicitadas não serão aceitas, mas o tópico da revisão pode ser sugerido, previamente, ao editor-chefe ou editores científicos assistentes.

Submissão de trabalhos:

O artigo a ser submetido deve passar por revisão do inglês, pelos revisores credenciados pela RBPV (http://cbpv.org.br/rbpv/revisoes_traducoes.php). Junto ao trabalho submetido anexar o certificado de revisão de inglês. Os pesquisadores deverão assumir os custos da revisão.

Taxa de publicação:

Após o aceite do artigo, será cobrada as seguintes taxas de publicação:

R\$ 250,00 (associados do CBPV em dia com as anuidades);

R\$ 500,00 (não-associados do CBPV).

Dados bancários para depósito: Nome: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária/ Revista Banco do Brasil (001) Agência: 0269-0 Conta Corrente: 28848-9

Para autores estrangeiros: SWIFT BRASBRRJRPO IBAN 001026900000288489
Endereço: Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, Zona Rural. CEP: 14884-900. Jaboticabal – SP, Brasil.

Processo de avaliação pelos pares

O processo de avaliação do trabalho dependerá da observância das Normas Editoriais, dos Pareceres do Corpo Editorial e/ou do Relator ad-hoc. Os artigos submetidos serão avaliados por, no mínimo, 3 revisores anônimos, selecionados pelo editor-chefe e editores científicos assistentes.

O relator deverá preencher o formulário de avaliação da RBPV, disponível no sistema on-line de submissão (<http://mc04.manuscriptcentral.com/rbpv-scielo>). Tendo

recebido a avaliação de pelo menos 2 dos revisores selecionados, o(s) autor(es) receberá (ão) os formulários de avaliação e possíveis correções feitas diretamente no texto. O avaliador poderá corrigir novamente o artigo, se necessário.

O artigo a ser submetido deve passar por revisão do inglês, pelos revisores credenciados pela RBPV (http://cbpv.org.br/rbpv/revisoes_traducoes.php). Junto ao trabalho submetido anexar o certificado de revisão de inglês. Os pesquisadores deverão assumir os custos da revisão. Lembramos aos autores, que a RBPV não repassa aos mesmos, os custos de publicação por página dos trabalhos. Não seguindo as exigências do processo de submissão, o trabalho não entrará no processo de avaliação.

Após diagramação e editoração, os editores científicos assistentes e a editora-chefe da revista, fazem as correções finais.

Transferência de direitos autorais:

Ao ser submetido, o artigo deve vir acompanhado de um ofício, assinado por todos os autores, concordando com a submissão e, caso aprovado, a publicação do artigo apenas na RBPV.

Ética

Experimentos que utilizam animais deverão ser conduzidos obedecendo às normas aprovadas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (<http://www.cobea.org.br>), devendo os autores apresentarem o número de protocolo de submissão e aprovação dos trabalhos em Comissão de Ética e Bem-Estar Animal.

Apresentação dos Manuscritos

Na elaboração do texto serão observadas as seguintes normas:

Os trabalhos devem ser submetidos em inglês, de forma concisa, com linguagem impessoal e com os sinais de chamadas de rodapé em números arábicos, lançados ao pé da página em que estiver o respectivo número e em ordem crescente. Os trabalhos deverão ser apresentados em fonte “Times New Roman”, tamanho 12, com margem superior e inferior de 2,5 cm, esquerda e direita com 3 cm e espaçamento entre linhas de 1,5 cm com as páginas numeradas. Para a categoria Artigo Completo, o trabalho não deverá exceder 15 páginas, quando da diagramação final. Para a categoria Notas de Pesquisa, o trabalho não deverá exceder 5 páginas, quando da diagramação final. As tabelas e ilustrações deverão ser apresentadas separadas do texto e anexadas ao final do trabalho, sem

legendas. As respectivas legendas deverão vir no texto logo após as referências bibliográficas. Ao submeter o artigo, anexar o comprovante de depósito, via endereço eletrônico: <http://www.scielo.br/rbpv>. Os trabalhos aceitos deverão ser revisados por um dos revisores de língua inglesa credenciados pela RBPV, de escolha e sob responsabilidade dos autores. Os Artigos Completos devem ser organizados obedecendo à seguinte sequência: Título Original, Título Traduzido, Autor(es), Filiação Institucional, Abstract (Keywords), Resumo (Palavras-chave), Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusões (ou combinação destes três últimos), Agradecimentos (facultativo) e Referências Bibliográficas. As Notas de Pesquisa obedecem à sequência acima sem a necessidade de se destacar os tópicos, sendo escritas em texto corrido. Para essa categoria, o artigo submetido deve possuir alto grau de ineditismo e originalidade, trazendo resultados novos de importância evidente.

Características dos elementos de um trabalho científico

Título Original

O título “cheio” e o subtítulo (se houver) não devem exceder 15 palavras. Não deverá aparecer nenhuma abreviatura, e os nomes de espécies ou palavras em latim deverão vir em itálico. Evitar (por exemplo) títulos que iniciem com: Estudos preliminares; Observações sobre. Não usar o nome do autor e data de citação em nomes científicos.

Autor(es)/Filiação

Na identificação, deve constar: nome completo e por extenso de todos os autores (sem abreviação). A Filiação Institucional deve informar os nomes próprios de todas as instituições e não suas traduções: Laboratório, Departamento, Faculdade ou Escola, Instituto, Universidade, Cidade, Estado e País, exatamente nessa ordem. No rodapé, deve constar as informações do autor para correspondência: Endereço completo, telefone e e-mail atualizado, nessa ordem.

Referências bibliográficas

As referências bibliográficas só serão admitidas desde que sejam de fácil consulta aos leitores. Não serão aceitas referências de trabalhos publicados em anais de congressos e as teses devem estar disponíveis para consulta em sites oficiais, por exemplo, Banco de Teses da Capes: <http://www.capes.gov.br/servicos/banco-de-teses>. Todas as citações no

texto devem ser cuidadosamente checadas em relação aos nomes dos autores e datas, exatamente como aparecem nas referências.

“Abstract” e Resumo

Devem conter no máximo 200 palavras, em um só parágrafo sem deslocamento. Não devem conter citações bibliográficas. Siglas e abreviações de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no trabalho, serão colocadas entre parênteses e precedidas do nome por extenso, por exemplo, Indirect Fluorescence Assay (IFA). Devem ser informativos, apresentando o objetivo do trabalho, metodologia sucinta, os resultados mais relevantes e a conclusão. O abstract redigido em língua inglesa e o resumo em língua portuguesa, ambos seguidos por keywords e palavras-chave, respectivamente.

Keywords e Palavras-chave

As palavras-chave devem expressar com precisão o conteúdo do trabalho. São limitadas em no máximo 6 (seis).

Introdução

Explicação clara e objetiva do estudo, da qual devem constar a relevância e objetivos do trabalho, restringindo as citações ao necessário.

Material e Métodos

Descrição concisa, sem omitir o essencial para a compreensão e reprodução do trabalho. Métodos e técnicas já estabelecidos devem ser apenas citados e referenciados. Métodos estatísticos devem ser explicados ao final dessa seção.

Resultados

O conteúdo deve ser informativo e não interpretativo: sempre que necessário devem ser acompanhados de tabelas, figuras ou outras ilustrações autoexplicativas.

Discussão

Deve ser limitada aos resultados obtidos no trabalho e o conteúdo deve ser interpretativo. Poderá ser apresentada como um elemento do texto ou juntamente aos resultados e conclusão. Enfatizar a importância de novos achados e novas hipóteses identificadas claramente com os resultados.

Tabelas

Elaboradas apenas com linhas horizontais de separação no cabeçalho e no final; e devem ser enviadas em formato editável (desejável excel). A legenda (título) é precedida da palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismos arábicos, devendo ser descritivas, concisas e inseridas acima das mesmas. As tabelas devem estar limitadas a um número mínimo necessário. Devem ser digitadas em espaço duplo em arquivos separados.

Figuras

As figuras, tais como: desenho, fotografia, prancha, gráfico, fluxograma e esquema, devem ser enviadas em formato .tif, .gif ou .jpg, com no mínimo de 300 dpi de resolução e numeradas consecutivamente. As legendas devem ser precedidas da palavra Figura, seguida da numeração em algarismo arábico e inseridas abaixo das mesmas. Listar as legendas numeradas com os respectivos símbolos e convenções, em folha separada em espaço duplo. O número de ilustrações deve ser restrito ao mínimo necessário. Fotografias digitais deverão ser enviadas em arquivos separados, como foram obtidas. Se a escala for dada às figuras, utilizar a escala BAR em todas as ilustrações ao invés de numérica, que pode ser alterada com a redução das figuras.

Conclusões

As conclusões podem estar inseridas na discussão ou em resultados e discussão, conforme a escolha dos autores. Nesse caso, esse item não será necessário.

Agradecimentos

Quando necessário, limitados ao indispensável.

Referências bibliográficas

A lista de referências deverá ser apresentada em ordem alfabética e, posteriormente, ordenadas em ordem cronológica, se necessário. Mais de uma referência do(s) mesmo(s) autor(es) no mesmo ano deve ser identificada pelas letras “a”, “b”, “c”, etc, inseridas após o ano de publicação. Títulos de periódicos devem ser abreviados conforme Index Medicus - <http://www2.bg.am.poznan.pl/czasopisma/medicus.php?lang=eng>.

Livros

Levine JD. Veterinary protozoology. Ames: ISU Press; 1985.

Capítulo de livro

Menzies PI. Abortion in sheep: diagnosis and control. In: Youngquist RS, Threlfall WR. Current therapy in large animal theriogenology. 2nd ed. Philadelphia: Saunders; 2007. p. 667-680.

Artigo de periódico

Paim F, Souza AP, Bellato V, Sartor AA. Selective control of Rhipicephalus (Boophilus) microplus in fipronil-treated cattle raised on natural pastures in Lages, State of Santa Catarina, Brazil. Rev Bras Parasitol Vet 2011; 20(1): 13-16.

Tese e Dissertação

Araujo MM. Aspectos ecológicos dos helmintos gastrintestinais de caprinos do município de patos, Paraíba - Brasil [Dissertação]. Rio de Janeiro: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; 2002.

Documento eletrônico

Centers for Disease Control and Prevention. Epi Info [online]. 2002 [cited 2003 Jan 10]. Available from: <http://www.cdc.gov/epiinfo/ei2002.htm>.

Obs. Nas referências, apresentar os nomes dos seis primeiros autores; para referências com mais de seis autores, apresentar os seis primeiros nomes seguidos da expressão et al.

Citações

As citações devem seguir o sistema autor-data:

Um autor: nome do autor e ano de publicação

Levine (1985) ou (LEVINE, 1985)

Dois autores: os nomes dos autores e ano da publicação

Paim e Souza (2011) ou (PAIM & SOUZA, 2011)

Três ou mais autores: nome do primeiro autor seguido de “et al.” e o ano de publicação

Araújo et al. (2002) ou (ARAÚJO et al., 2002)

Prova Gráfica

O trabalho diagramado em formato pdf., será enviado por e-mail ao autor correspondente. Alterações no artigo, quando aceitas para publicação, devem ser realizadas nesse estágio, com permissão do editorchefe. Portanto, o trabalho deve ser cuidadosamente corrigido antes de responder ao editor, pois inclusões de correções subsequentes (indicação de novo autor, mudança de parágrafos inteiros ou tabelas) não podem ser garantidas.

Anexo 4: Instruções aos autores para publicações na revista Pesquisa Veterinária Brasileira.



Os artigos devem ser submetidos através do Sistema Scholar One, link <<https://mc04.manuscriptcentral.com/pvb-scielo>>, com os arquivos de texto na versão mais recente do Word e formatados de acordo com o modelo de apresentação disponíveis no ato de submissão e no site da revista (www.pvb.com.br). Devem constituir-se de resultados de pesquisa ainda não publicados e não considerados para publicação em outro periódico.

Apesar de não serem aceitas comunicações (Short communications) sob a forma de “Notas Científicas”, não há limite mínimo do número de páginas do artigo enviado.

Embora sejam de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos artigos, o Conselho Editorial, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias. Os artigos submetidos são aceitos através da aprovação pelos pares (peer review).

NOTE: Em complementação aos recursos para edição da revista é cobrada taxa de publicação (paper charge) no valor de R\$ 2.000,00 por artigo editorado, na ocasião do envio da prova final, ao autor para correspondência.

1. Os artigos devem ser organizados em Título, ABSTRACT, RESUMO, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO, CONCLUSÕES, Agradecimentos e REFERÊNCIAS:

a) o Título deve ser conciso e indicar o conteúdo do artigo; pormenores de identificação científica devem ser colocados em MATERIAL E MÉTODOS.

b) O(s) Autor(es) deve(m) sistematicamente abreviar seus nomes quando compridos, mas mantendo o primeiro nome e o último sobrenome por extenso, como por exemplo: Paulo Fernando de Vargas Peixoto escreve Paulo V. Peixoto (inverso, Peixoto P.V.); Franklin Riet-Correa Amaral escreve Franklin Riet-Correa (inverso, Riet-Correa F.). Os artigos devem ter no máximo 8 (oito) autores;

c) o ABSTRACT deve ser uma versão do RESUMO em português, podendo ser mais explicativo, seguido de “INDEX TERMS” que incluem palavras do título;

d) o RESUMO deve conter o que foi feito e estudado, indicando a metodologia e dando os mais importantes resultados e conclusões, seguido dos “TERMOS DE INDEXAÇÃO” que incluem palavras do título;

e) a INTRODUÇÃO deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância principal, e finalizar com a indicação do objetivo do artigo;

f) em MATERIAL E MÉTODOS devem ser reunidos os dados que permitam a repetição da experimentação por outros pesquisadores. Em experimentos com animais, deve constar a aprovação do projeto pela Comissão de Ética local;

g) em RESULTADOS deve ser feita a apresentação concisa dos dados obtidos. Quadros (em vez de Tabelas) devem ser preparados sem dados supérfluos, apresentando, sempre que indicado, médias de várias repetições. É conveniente expressar dados complexos, por gráficos (=Figuras), ao invés de apresentá-los em Quadros extensos;

h) na DISCUSSÃO devem ser discutidos os resultados diante da literatura. Não convém mencionar artigos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los;

i) as CONCLUSÕES devem basear-se somente nos resultados apresentados;

j) Agradecimentos devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé;

k) a Lista de REFERÊNCIAS, que só incluirá a bibliografia citada no artigo e a que tenha servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabética e cronologicamente, pelo sobrenome do primeiro autor, seguido dos demais autores (todos), em caixa alta e baixa, do ano, do título da publicação citada, e, abreviado (por extenso em casos de dúvida), o nome do periódico ou obra, usando sempre como exemplo os últimos fascículos da revista (www.pvb.com.br).

2. Na elaboração do texto devem ser atendidas as seguintes normas:

a) A digitação deve ser na fonte Cambria, corpo 10, entrelinha simples; a página deve ser no formato A4, com 2cm de margens (superior, inferior, esquerda e direita), o texto deve ser corrido e não deve ser formatado em duas colunas, com as legendas das Figuras no final (logo após as REFERÊNCIAS). As Figuras e os Quadros devem ter seus arquivos fornecidos separados do texto. Os nomes científicos devem ser escritos por extenso no início de cada capítulo.

b) a redação dos artigos deve ser concisa, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal; no texto, os sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos colocados em sobrescrito após a palavra ou frase que motivou a nota.

Essa numeração será contínua por todo o artigo; as notas deverão ser lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo número de chamada, sem o uso do “Inserir nota de fim”, do Word. Todos os Quadros e todas as Figuras têm que ser citados no texto. Estas citações serão feitas pelos respectivos números e, sempre que possível, em ordem crescente. ABSTRACT e RESUMO serão escritos corridamente em um só parágrafo e não devem conter citações bibliográficas.

c) no rodapé da primeira página deverá constar endereço profissional completo de todos os autores (na língua do país dos autores), o e-mail do autor para correspondência e dos demais autores. Em sua redação deve-se usar vírgulas em vez de traços horizontais;

d) siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no artigo, serão colocadas entre parênteses, após o nome da instituição por extenso;

e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema “autor e ano”; artigos de até dois autores serão citados pelos nomes dos dois, e com mais de dois, pelo nome do primeiro, seguido de “et al.”, mais o ano; se dois artigos não se distinguirem por esses elementos, a diferenciação será feita através do acréscimo de letras minúsculas ao ano. Artigos não consultados na íntegra pelo(s) autor(es), devem ser diferenciados, colocando-se no final da respectiva referência, “(Resumo)” ou “(Apud Fulano e o ano.)”; a referência do artigo que serviu de fonte, será incluída na lista uma só vez. A menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita no texto somente com citação de Nome e Ano, colocando-se na lista das Referências dados adicionais, como a Instituição de origem do(s) autor(es). Nas citações de artigos colocados cronologicamente entre parênteses, não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano, como por exemplo: (Priester & Haves 1974, Lemos et al. 2004, Krametter-Froetcher et. al. 2007);

f) a Lista das REFERÊNCIAS deverá ser apresentada em caixa alta e baixa, com os nomes científicos em itálico (grifo), e sempre em conformidade com o padrão adotado nos últimos fascículos da revista, inclusive quanto à ordenação de seus vários elementos.

3. Os gráficos (=Figuras) devem ser produzidos em 2D, com colunas em branco, cinza e preto, sem fundo e sem linhas. A chave das convenções adotadas será incluída preferentemente, na área do gráfico (=Figura); evitar-se-á o uso de título ao alto do gráfico (=Figura).

4. As legendas explicativas das Figuras devem conter informações suficientes para que estas sejam compreensíveis, (até certo ponto autoexplicativas, independente do texto).

5. Os Quadros devem ser explicativos por si mesmos. Entre o título (em negrito) e as colunas deve vir o cabeçalho entre dois traços longos, um acima e outro abaixo. Não há traços verticais, nem fundos cinzas. Os sinais de chamada serão alfabéticos, recomeçando, se possível, com “a” em cada Quadro; as notas serão lançadas logo abaixo do Quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço curto à esquerda.

Anexo 5: Normas para submissão de artigos na Revista da Sociedade Brasileira de medicina Tropical.



Escopo

A Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical é um periódico oficial da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, multidisciplinar, com acesso aberto (Licença Creative Commons - CC-BY - <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), que publica pesquisas originais relacionadas a doenças tropicais, medicina preventiva, saúde pública, doenças infecciosas e assuntos relacionados. A preferência para publicação será dada a artigos que relatem pesquisas e observações originais. A Revista possui um sistema de revisão por pares, para a aceitação de artigos, e sua periodicidade é bimestral. A Revista de Sociedade Brasileira de Medicina Tropical é publicada em inglês.

Política de avaliação

Os manuscritos submetidos com vistas à publicação na Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical são avaliados inicialmente pelos profissionais da secretaria quanto à adequação às normas. Em seguida, são encaminhados para, no mínimo, dois revisores para avaliação e emissão de parecer fundamentado (revisão por pares), os quais, oportunamente, serão utilizados pelos editores para decidir sobre a aceitação, ou não, do mesmo. Em caso de divergência de opinião entre os revisores, o manuscrito será enviado para um terceiro relator para fundamentar a decisão editorial final, de acordo com o workflow do processo de submissão da Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical (disponível online em <http://www.scielo.br/revistas/rsbmt/iinstruc.htm#005>).

O contato com o escritório editorial pode ser estabelecido no endereço abaixo:

Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical

Av. Getúlio Guraritá s/n

Caixa Postal: 118,

CEP: 38001-970

Uberaba, Minas Gerais, Brasil

Tel: 55 34 3318-5287

Fax: 55 34 3318-5279

e-mail: rsbmt@rsbmt.uftm.edu.br

<http://www.scielo.br/rsbmt>

Não há taxa para submissão e avaliação de artigos.

Tipos de manuscrito

A Revista convida à publicação Artigos Originais, Artigos de Revisão e Minirrevisões, Editoriais, Comunicações Breves, Relatos de Casos, Relatórios Técnicos, Imagens em Doenças Infecciosas, Cartas e Números Especiais.

Artigos Originais: devem relatar pesquisas originais que não tenham sido publicadas ou consideradas para publicação em outros periódicos. O limite de palavras é de 3.500 (excluindo resumo, título e referências). O manuscrito deve conter resumo estruturado com até 250 palavras, com os tópicos Introdução, Métodos, Resultados e Conclusões. O Manuscrito deve ser organizado incluindo os seguintes tópicos: Título, Título Corrente, Resumo Estruturado, Palavras-Chaves (máximo de cinco), Texto do Manuscrito (Introdução, Métodos, Resultados, Discussão), Conflito de Interesses, Lista de Referências e Título das Figuras/Legendas. Um total de cinco ilustrações (tabelas e figuras) é permitido.

Artigos de Revisão: devem ser uma análise crítica de avanços recentes e não apenas revisão da literatura, geralmente a convite do editor. Artigos de Revisão têm o limite de 3.500 palavras (excluindo resumo, título e referências). Devem ter resumo com até 250 palavras (não estruturado). Cinco ilustrações são permitidas (tabelas e figuras). São publicadas também minirrevisões. Minirrevisões têm no máximo 3.000 palavras (excluindo resumo, título e referências). Devem ter resumo (não estruturado) com até 200 palavras, três ilustrações (tabelas e figuras) e máximo de 3.000 palavras. O Manuscrito

deve ser organizado incluindo os seguintes tópicos: Título, Título Corrente, Resumo não estruturado, Palavras-Chaves (máximo de cinco), Texto do Manuscrito, Conflito de Interesses, Lista de Referências e Título das Figuras/Lendas.

Editoriais: usualmente, escritos a convite, considerando os tópicos da área de enfoque da revista, não excedendo a 1.500 palavras, sem resumo e palavras-chaves e no máximo uma figura ou tabela e dez referências.

Comunicações Breves: devem ser relatos sobre novos resultados interessantes dentro da área de abrangência da revista. As comunicações breves devem ter no máximo 2.000 palavras (excluindo resumo, título e referências); Devem conter resumo estruturado com no máximo 100 palavras (com os tópicos Introdução, Métodos, Resultados e Conclusões) e com até 15 referências. Um máximo de três ilustrações (tabelas e figuras) é permitido. Até três palavras-chaves devem ser fornecidos. O corpo do manuscrito não devem conter subdivisões ou subtópicos. Declaração de conflito de interesses deve ser incluída.

Relatos de Casos: devem ser relatos breves com extensão máxima de 1.500 palavras (excluindo título, resumo e referências), com máximo de três ilustrações (tabelas e figuras), até 12 referências, resumo não estruturado com no máximo 100 palavras e três palavras-chaves. O Manuscrito deve ser organizado incluindo os seguintes tópicos: Título, Título Corrente, Resumo, Palavras-Chaves, Texto do Manuscrito (Introdução, Relato de Caso, Discussão), Lista de Referências e Título das Figuras/Lendas.

Relatórios Técnicos: devem ser precisos e relatar os resultados e recomendações de uma reunião de experts. Será considerado, se formatado como um editorial.

Imagens em Doenças Infecciosas: até três figuras com a melhor qualidade possível. Apenas três autores e três referências são permitidos. O tamanho máximo é de 250 palavras (excluindo título e referências) com ênfase na descrição da figura. Os temas devem envolver alguma lição clínica, contendo título e a descrição das figuras.

Cartas: leitores são encorajados a escrever sobre qualquer tópico relacionado a doenças infecciosas e medicina tropical de acordo com o escopo da Revista. Não devem exceder 1.200 palavras, sem resumo e palavras-chaves, com apenas uma inserção (figura ou

tabela) e pode tratar de material anteriormente publicado na revista, com até 12 referências.

Números Especiais: Propostas de números especiais devem ser feitas ao o Editor e/ou Editor Convidado. A proposta será analisada levando em consideração o tema, organização do programa ou produção de acordo com escopo da revista.

Preparação do manuscrito

Autores são aconselhados a ler atentamente estas instruções e segui-las para garantir que o processo de revisão e publicação de seu manuscrito seja tão eficiente e rápido quanto possível. Os editores reservam-se o direito de devolver manuscritos que não estejam em conformidade com estas instruções.

Sistema de Sumissão On-line: Todos os manuscritos a serem considerados para publicação na Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical devem ser submetidos por via eletrônica através do sistema de submissão on-line nos endereços <http://mc04.manuscriptcentral.com/rsbmt-scielo> ou <http://www.scielo.br/rsbmt>. O autor deve escolher dentro do item “Tipos de Manuscrito” uma categoria para o manuscrito: Artigos Originais, Editoriais, Artigos de Revisão, Comunicações Breves, Relatos de Casos, Relatórios Técnicos, Imagens em Doenças Infecciosas, Cartas, Réplica à Carta ou Outros (quando não se encaixar em nenhuma das categorias listadas). A responsabilidade pelo conteúdo do manuscrito é inteiramente do autor e seus co-autores.

Carta de Apresentação: a) deve conter uma declaração, assegurando de que se trata de pesquisa original e que, ainda, não foi publicada, nem está sendo considerada por outro periódico científico. Devem constar, também, que os dados/resultados do manuscrito não são plágio. b) deve ser assinada por todos os autores e, na impossibilidade restrita, o autor principal e o último autor podem assinar pelos outros co-autores, mediante procuração. c) Os autores devem incluir na Cover Letter uma declaração de ciência de que o manuscrito, após submetido, não poderá ter a ordem, nem o número de autores alterados, sem justificativa e/ou informação à Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. d) Devem declarar que concordam, caso o manuscrito seja aceito para publicação, transferir todos os direitos autorais para a Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.

Contribuição dos autores: Os autores devem incluir, em documento separado, uma declaração de responsabilidade especificando a contribuição, de cada um, no estudo.

Edição da Pré-Submissão: todos os manuscritos submetidos à Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical devem ser em inglês. É altamente recomendável que os autores utilizem os serviços de uma empresa profissional de edição e/ou tradução. A revisão/edição da língua inglesa não garante que o manuscrito será aceito para publicação.

Formatação do manuscrito

O manuscrito deve ser preparado usando software padrão de processamento de textos e deve ser impresso (fonte Times New Roman tamanho 12) com espaço duplo em todo o texto, título/legendas para as figuras, e referências, margens com pelos menos 3cm. O manuscrito deve ser dividido nas seguintes seções: Cartão de Apresentação (endereçada ao Editor-Chefe), Página de Título, Título, Resumo, palavras-chaves, Texto do Manuscrito, Agradecimentos, Suporte Financeiro, Declaração de Conflito de Interesses, Lista de Referências, Título das Figuras/Legendas. A Carta de Apresentação, Página de Título, Agradecimentos e Suporte Financeiro devem ser incluídos em documentos separados (estes dois últimos podem ser incluídos junto com a Página de Título). Abreviações devem ser usadas com moderação.

Página de Título: deve incluir o nome dos autores na ordem direta e sem abreviações, afiliações institucionais (Departamento, Instituição, Cidade, Estado e País de cada autor). O endereço completo do autor para correspondência deve ser especificado, incluindo telefone, fax e e-mail. Na página de título também podem ser incluídos agradecimentos e suporte financeiro. A quantidade de autores por manuscrito é limitada a oito, exceto para estudos multicêntricos.

Indicação de potenciais revisores: Os autores são convidados a fornecer os nomes e informações de contato (e-mail e telefone) por três potenciais revisores imparciais. Favor informar revisores de região e instituição diferente dos autores.

Título: deve ser conciso, claro e o mais informativo possível, não deve conter abreviações e não deve exceder a 200 caracteres, incluindo espaços.

Título Corrente: com no máximo 50 caracteres.

Resumo Estruturado: deve condensar os resultados obtidos e as principais conclusões de tal forma que um leitor, não familiarizado com o assunto tratado no texto, consiga entender as implicações do artigo. O resumo não deve exceder 250 palavras (100 palavras no caso de comunicações breves) e abreviações devem ser evitadas. Deve ser subdividido em: Introdução, Métodos, Resultados e Conclusões.

Palavras-chaves: 3 a 6 palavras devem ser listados em Inglês, imediatamente abaixo do resumo estruturado.

Introdução: deve ser curta e destacar os propósitos para o qual o estudo foi realizado. Apenas quando necessário citar estudos anteriores de relevância.

Métodos: devem ser suficientemente detalhados para que os leitores e revisores possam compreender precisamente o que foi feito e permitir que seja repetido por outros. Técnicas-padrões precisam apenas ser citadas.

Ética: em caso de experimentos em seres humanos, indicar se os procedimentos realizados estão em acordo com os padrões éticos do comitê de experimentação humana responsável (institucional, regional ou nacional) e com a Declaração de Helsinki de 1964, revisada em 1975, 1983, 1989, 1996 e 2000. Quando do relato de experimentos em animais, indicar se seguiu um guia do conselho nacional de pesquisa, ou qualquer lei sobre o cuidado e uso de animais em laboratório foram seguidas e o número de aprovação deve ser enviado à Revista.

Ensaio Clínico: No caso de Ensaio Clínico, o manuscrito deve ser acompanhado pelo número e órgão de registro do ensaio clínico (Plataforma REBEC). Estes requisitos estão de acordo com a BIREME/OPAS/OMS e o Comitê Internacional dos Editores de Revistas Médicas (<http://www.icmje.org>) e do Workshop ICTPR.

Resultados: devem ser um relato conciso e impessoal da nova informação. Evitar repetir no texto os dados apresentados em tabelas e ilustrações.

Discussão: deve relacionar-se diretamente com o estudo que está sendo relatado. Não incluir uma revisão geral sobre o assunto, evitando que se torne excessivamente longa.

Agradecimentos: devem ser curtos, concisos e restritos àqueles realmente necessários, e, no caso de órgãos de fomento não usar siglas.

Conflito de Interesse: todos os autores devem revelar qualquer tipo de conflito de interesse existente durante o desenvolvimento do estudo.

Suporte Financeiro: informar todos os tipos de fomento recebidos de agências de fomento ou demais órgãos ou instituições financiadoras da pesquisa.

Referências: devem ser numeradas consecutivamente, na medida em que aparecem no texto. Listar todos os autores quando houver até seis. Para sete ou mais, listar os seis primeiros, seguido por “et al”. Digitar a lista de referências com espaçamento duplo em folha separada e no final do manuscrito. Referências de comunicações pessoais, dados não publicados ou manuscritos “em preparação” ou “submetidos para publicação” não devem constar da lista de referência. Se essenciais, podem ser incorporados em local apropriado no texto, entre parênteses da seguinte forma: (AB Figueiredo: Comunicação Pessoal, 1980); (CD Dias, EF Oliveira: dados não publicados). Citações no texto devem ser feitas pelo respectivo número das referências, acima da palavra correspondente, em ordem numérica crescente, separadas por parênteses, sem vírgula. [Ex.: Mundo(1) (2) (3); Vida(30) (42) (44) (45) (46) (47) (48) (49) (50)]. As referências no fim do manuscrito devem estar de acordo com o sistema de requisitos uniformes utilizado para manuscritos enviados para periódicos biomédicos (Consulte: <http://www.nlm.nih.gov/citingmedicine>). Os títulos dos periódicos devem ser abreviados de acordo com o estilo usado no Index Medicus (Consulte: <http://ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=journals&TabCmd=limits>).

Alguns exemplos de referências:

1. Citação de Artigos em Geral: autores, título do artigo na língua original em que foi publicado, nome do periódico, ano, volume, páginas inicial e final completas.

Russell FD, Coppell AL, Davenport AP. In vitro enzymatic processing of radiolabelled big ET-1 in human kidney as a food ingredient. *Biochem Pharmacol* 1998; 55:697-701.

2. Capítulo de livro: autores do capítulo, título do capítulo, editores, nome do Livro, edição, cidade, editora, ano e página.

Porter RJ, Meldrum BS. Antiepileptic drugs. In: Katzung BG, editor. *Basic and clinical pharmacology*. 6th ed. Norwalk (CN): Appleton and Lange; 1995. p. 361-380.

3. Livro: autores do livro, nome do livro, edição, cidade, editora e ano.

Blenkinsopp A, Paxton P. *Symptoms in the pharmacy: a guide to the management of common illness*. 3rd ed. Oxford: Blackwell Science; 1998.

4. Dissertação/Tese: Autor, Título, Tipo (Dissertação ou Tese), Lugar da Publicação, Nome da Instituição, Ano, Total de páginas.

Cosendey MAE. *Análise da implantação do programa farmácia básica: um estudo multicêntrico em cinco estados do Brasil*. [Doctor's Thesis]. [Rio de Janeiro]: Escola Nacional de Saúde Pública. Fundação Oswaldo Cruz; 2000. 358 p.

Figuras: devem ser submetidas, em arquivos separados, nomeados apenas com o número das figuras (exemplo: Figura 1; Figura 2). Todas as figuras devem ter numeração arábica, citadas no texto, consecutivamente. Título e Legendas: devem ser digitadas com espaçamento duplo no final do manuscrito. Dimensões: As dimensões das figuras não devem ultrapassar o limite de 18cm de largura por 23cm de altura. Veja abaixo a correta configuração para cada formato de figura:

Fotografias: devem ser obrigatoriamente submetidas em alta resolução no formato Tiff. Certifique-se que a mesma foi capturada na resolução mínima de 600 DPI, preferencialmente entre 900-1200dpi, preparadas utilizando programa de Editoração de Imagens (Adobe Photoshop, Corel Photo Paint, etc).

Gráficos: criados usando Microsoft Excel, devem ser salvos com a extensão original (.xls).

Mapas e Ilustrações: devem ser vetorizadas (desenhados) profissionalmente utilizando os softwares Corel Draw ou Illustrator em alta resolução.

Imagens: produzidas em software estatístico devem ser convertidas para o formato Excel ou se o programa permitir, em formato PDF.

Ilustrações Coloridas: devem ser aprovadas pelos editores e as despesas extras para confecção de fotolitos coloridos serão de responsabilidade dos autores.

Tabelas: devem ser digitadas com espaçamento simples, com título curto e descritivo (acima da tabela) e submetidas em arquivos separados. Legendas para cada tabela devem aparecer no rodapé da mesma página que a tabela. Todas as tabelas devem ter numeração arábica, citadas no texto, consecutivamente. Tabelas não devem ter linhas verticais, e linhas horizontais devem ser limitadas ao mínimo. Tabelas devem ter no máximo 18cm de largura por 23cm de altura, fonte Times New Roman, tamanho 9.

Processo de Envio: os artigos submetidos à Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical deverão utilizar apenas a via eletrônica. Todos os manuscritos deverão ser enviados via internet para <http://mc04.manuscriptcentral.com/rsbmt-scielo>, seguindo as instruções no topo de cada tela. O processo de revisão pelos pares também será totalmente pela via eletrônica.

Sobre Reenvio e Revisões: a revista diferencia entre:

- a) manuscritos que foram rejeitados e
- b) manuscritos que serão re-avaliados após a realização das correções que foram solicitadas aos autores.

Reenvio: caso o autor receba uma carta informando que seu trabalho foi rejeitado e queira que os editores reconsiderem tal decisão, o autor poderá re-enviá-lo. Neste caso será gerado um novo número para o manuscrito.

Revisão: caso seja necessário refazer seu manuscrito com base nas recomendações e sugestões dos revisores, ao devolvê-lo, para uma segunda análise, por favor, encaminhe o manuscrito revisado e informe o mesmo número do manuscrito.

Após a Aceitação: Uma vez aceito para publicação, o processo de publicação inclui os passos abaixo:

- a) Formulário de concessão de direitos autorais, fornecido pela secretaria da revista, deve retornar para a revista assinado pelos autores.

b) Provas: serão enviadas ao autor responsável, mencionado no endereço para correspondência, no formato PDF, para que o texto seja cuidadosamente conferido. Nesta etapa do processo de edição, não serão permitidas mudanças na estrutura do manuscrito. Após os autores receberem as provas, deverão devolvê-las corrigidas, dentro de dois quatro dias.

c) Os artigos aceitos comporão os números impressos obedecendo ao cronograma em que foram submetidos, revisados e aceitos.

d) Os artigos aceitos remanescentes a cada número da revista serão disponibilizados online enquanto aguardam a prioridade para publicação na versão impressa.

Re-impressões: a Revista fornece ao autor, gratuitamente, excertos do artigo em formato PDF, via e-mail.

Custos de Publicação: Não haverá custos de publicação.

A tradução de todo manuscrito deve ser realizada antes da submissão do mesmo. A contratação e o pagamento dos serviços de tradução são de responsabilidade dos autores.

A Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical não fornece qualquer tipo de serviço de tradução. Custos de publicação de imagens coloridas são de responsabilidade dos autores.