



Universidade Estadual do Ceará
Sthenia Santos Albano Amóra

**Epidemiologia da Leishmaniose e
Tripanossomíase Canina no Município de
Mossoró, Rio Grande do Norte**

Fortaleza, Ceará
Julho de 2004

Universidade Estadual do Ceará
Sthenia Santos Albano Amóra

**Epidemiologia da Leishmaniose e
Tripanossomíase Canina no Município de
Mossoró, Rio Grande do Norte**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias. Área de Concentração: Reprodução e Sanidade Animal.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Fábio Gadelha Rocha

Fortaleza, Ceará

Julho de 2004

A524a Amóra, Sthenia Santos Albano

Epidemiologia da Leishmaniose e Tripanossomíase Canina no Município de Mossoró, Rio Grande do Norte / Sthenia Santos Albano Amóra. ____ 2004.

90 p, il.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Fábio Gadelha Rocha

Dissertação de Mestrado em Ciências Veterinárias, Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária.

1. Cão. 2. Leishmaniose visceral. 3. Tripanossomíase. 4. Diagnóstico sorológico. 5. Epidemiologia. I. Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária.

CDD: 616.9364

Universidade Estadual do Ceará
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias

Título do Trabalho: Epidemiologia da Leishmaniose e Tripanossomíase
Canina no Município de Mossoró, Rio Grande do Norte.

Autora: Sthenia Santos Albano Amóra

Defesa em ____/____/____

Conceito obtido: _____

Nota obtida: _____

Banca Examinadora

Marcos Fábio Gadelha Rocha, Prof. Dr.

Orientador

Nilza Dutra Alves, Prof.^a Dr.^a

Co-orientadora

Izabel Alencar B. Vasconcelos, Prof.^a Dr.^a

Examinadora

Cláudia Maria Leal Bevilaqua, Prof.^a Dr.^a

Examinadora

“Mesmo chegando aonde cheguei, vocês continuam com esse olhar assustado, perguntando o que irá acontecer agora. Pois saibam que, por mais incerto que seja o meu futuro, sempre serei quem vocês me ensinaram a ser. O meu obrigada é muito pequeno diante da grandeza do que fizeram por mim. A vocês, pais por natureza, por opção e amor, dedico minha vida, além da grande alegria deste momento e promessa de que esta não será a última conquista.”

AGRADECIMENTOS

- Desde o início dessa caminhada tu estivestes comigo... e agora que alcancei meu objetivo, venho te louvar, te agradecer e oferecer humildemente o amor, a felicidade e enfim, a vitória deste momento. Obrigada, “Senhor”!
- Agradeço por ter me iluminado ao longo dessa jornada que se encerra e, diante de tanto amor, é que rogo “Mãe Santíssima”, que olhe por mim na nova etapa que se inicia.
- Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Marcos Fábio Gadelha Rocha. Afinal, mestre, por opção ou natureza, é difícil de se ter. Você se interessou, se responsabilizou e trabalhou comigo com afinco. A você dedico meu carinho, reconhecimento e gratidão.
- Minha grande amiga, Prof.^a Dr.^a Nilza Dutra Alves. Tenho certeza que jamais deixarei de ser sua discípula. A discípula que guardará na memória os seus ensinamentos, o seu jeito, a sua pessoa, e no coração, a gratidão, o respeito e infinito afeto.
- Ao meu companheiro, Júlio César dos Reis Saraiva, que tantas vezes deixei em segundo plano, que em momentos importantes suportou minha ausência e que nos dias de fracasso respeitou meu sentimento e enxugou minhas lágrimas, um obrigada especial que só seu coração é capaz de interpretar.
- Prof.^a Dr.^a e amiga, Maria José Paes Santos. Esta vitória também é sua que, de uma forma muito particular, esteve sempre presente.
- Ao Dr. Sylvio Celso G. da Costa e à Dr.^a Kátia da Silva Calabrese e todos aqueles que compõem o Laboratório de Imunomodulação da FIOCRUZ – RJ, pela fundamental participação no desenvolvimento do trabalho laboratorial e apoio na realização deste estudo, o meu eterno agradecimento.
- As minhas amigas/irmãs, Andressa Luara Rosado, Kênia Suênia M. Araújo, Gabriela Medeiros Gabriel e Ediane Fernandes de Almeida. Por sempre me lembrar o que sou e de tudo que sou capaz... por aceitarem tantos “não” sem questionar, por estarem sempre disponíveis quando meu tempo para vocês era tão limitado. E se vocês são acima de tudo preciosas para mim é porque preciosa também sou para vocês.

- À minha família, pela sua grandeza, presente na dedicação que existia à espera da minha chegada, e que existe na continuação do amor que me reserva. Muito obrigada.
- À Dr.^a Maria Nilza R. Saraiva e seu esposo Dr. Francisco Saraiva da Silva, por terem me acolhido e me considerado sua filha... por terem acompanhado e participado desses últimos passos, ansiedades e pequenas vitórias. Com afeto e respeito lhes dedico minha gratidão.
- Às minhas colegas de curso e de apartamento, Suzana Aparecida A. da Costa e Tânia Valeska M. Dantas. O dia-a-dia tem poder transformador. O colega torna-se amigo, torna-se companheiro. Afinidades se apresentam, laços se formam... Hoje, temos um pouco da outra em cada uma de nós... e por tudo e de tudo, a saudade há de ficar...
- Aos meus colegas do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UECE. Chega ao fim mais uma etapa das nossas vidas. Da convivência certamente tiraremos alguma lição. De tudo fica a saudade, amizade e a gratidão.
- À Prof.^a Dr.^a Izabel Alencar B. Vasconcelos. Porque todos aqueles que passam em nossas vidas não passam em vão, levam um pouco de nós e deixam um pouco de si. Há os que levam muito mas nunca há os que não deixam nada. À Senhora dedico meu respeito e grande admiração.
- Aos Profs do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UECE. Meus agradecimentos sinceros aos professores amigos, aos somente professores e aqueles que com seus problemas e dores humanas, não foram amigos e nem professores. Especialmente às Profs.^a Drs.^a Maria de Fátima da S. Teixeira e Cláudia Maria L. Bevilaqua, meu respeito e gratidão pela ajuda e atenção prestada.
- Às secretárias do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UECE, Adriana Maria S. Albuquerque e Alzenira de A. Ferreira. A vocês, que pela dedicação ao trabalho, me ofereceram condições de percorrer esse caminho, meus sincero respeito e reconhecimento.
- E a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), por ter fornecido viabilidade para o desenvolvimento desse trabalho.

RESUMO

Devido à grande susceptibilidade do homem e de alguns animais domésticos, particularmente o cão e o gato, a certas doenças infecto-parasitárias, tornou-se de grande importância o estabelecimento de um ciclo doméstico de algumas infecções, tais como, leishmaniose e tripanossomíase. Por conseguinte, esta pesquisa realizou um estudo epidemiológico e laboratorial da leishmaniose e tripanossomíase canina, por meio de questionários e métodos sorológicos, buscando auxiliar no estabelecimento de uma estratégia epidemiológica eficaz no controle dessas doenças no homem, através da redução da prevalência da doença canina. Para tanto, foram utilizados cães provenientes de área endêmica para ambas infecções no Município de Mossoró, Rio Grande do Norte, onde foi preenchido um questionário epidemiológico e coletado sangue de cada animal para posterior extração do soro, o qual foi submetido a testes sorológicos. O diagnóstico foi realizado no Laboratório de Imunomodulação do Departamento de Protozoologia da FIOCRUZ, Rio de Janeiro, através dos testes de Imunofluorescência Indireta (IFI) e Imunoabsorção Enzimática (ELISA). Observou-se que dos 198 cães avaliados, 16% foram prevalentes para *Trypanosoma cruzi* e 45% para *Leishmania chagasi* na área rural, enquanto que na área urbana 38% foram prevalentes para *T. cruzi* e 34% para *L. chagasi*. Os cães peridomiciliados que tinham outros cães e/ou gatos como contactantes foram os mais susceptíveis para ambos parasitas. No tocante à função exercida pelos cães, apenas a função de guarda influenciou a soroprevalência dos cães para *T. cruzi*. Estes resultados apontam a necessidade de se alertar a população e as autoridades sobre a presença desses agentes no nosso meio, uma vez que as informações contidas nesta pesquisa podem contribuir nas estratégias de controle dos reservatórios domésticos destas zoonoses.

ABSTRACT

Due to the great susceptibility of man and some domestic animals, especially dogs and cats, to infectious diseases, the establishment of a domestic cycle to some infectious agents has become very important, as this is the case concerning leishmaniasis and trypanosomiasis. In this research, we conducted an epidemiological and laboratorial survey of canine leishmaniasis and trypanosomiasis, applying questionnaires and serologic assays and trying to establish an efficient epidemiological strategy for control of these illnesses in man by reducing their prevalence in dogs. In this way, dogs from an endemic area with both infections in the city of Mossoró, Rio Grande do Norte, were used. An epidemiological questionnaire was completed and blood samples from each animal collected in order to carry out serological assays. Diagnostic tests were performed in the Laboratório de Imunomodulação, Departamento de Protozoologia, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, and consisted of tests of Indirect Immunofluorescence Assay (IFI) and Enzyme-Liked Immunosorbent Assay (ELISA). It was found that, from the 198 evaluated dogs, 16% presented serum reaction against *Trypanosoma cruzi* and 45% against *Leishmania chagasi* in the rural area, while 38% and 34% dogs from urban area were reactive to *T. cruzi* and to *L. chagasi*, respectively. Dogs kept outdoors and as such having contact with other dogs and/or cats were more susceptible to both parasites. With regard to the functional category, only guard dogs seemed to influence the positive reaction on dogs against *T. cruzi*. These results indicate the need to alert the population and the authorities about the presence of these agents in our environment, as data from this research can contribute to the strategies to control the domestic reservoirs of these zoonosis.

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas	12
Lista de Figuras e Tabelas	14
1. Introdução	16
2. Revisão de Literatura:	
2.1 Leishmaniose:	
2.1.1 Histórico.....	17
2.1.2 Agente Etiológico.....	18
2.1.3 Reservatórios.....	19
2.1.4 Vetores.....	21
2.1.5 Epidemiologia.....	22
2.1.6 Mecanismos de Transmissão.....	24
2.1.7 Ciclo Biológico.....	24
2.1.8 Sintomatologia.....	25
2.1.9 Diagnóstico.....	27
2.1.10 Tratamento.....	29
2.1.11 Profilaxia de Controle.....	30
2.2 Tripanossomíase:	
2.2.1 Histórico.....	32
2.2.2 Agente Etiológico.....	33
2.2.3 Reservatórios.....	33
2.2.4 Vetores.....	35
2.2.5 Epidemiologia.....	35
2.2.6 Mecanismos de Transmissão.....	37
2.2.7 Ciclo Biológico.....	37
2.2.8 Sintomatologia.....	38
2.2.9 Diagnóstico.....	39
2.2.10 Tratamento.....	41
2.2.11 Profilaxia e Controle.....	41

3. Justificativa.....	43
4. Objetivos:	
4.1 Objetivo Geral.....	44
4.2 Objetivos Específicos.....	44
5. Material e Métodos:	
5.1 Enfoque Epidemiológico.....	45
5.2 Coleta e Processamento do Espécime Clínico.....	46
5.3 Testes Sorológicos.....	46
5.4 Análise Estatística.....	49
6. Artigos Submetidos:	
6.1 Artigo 1.....	51
6.2 Artigo 2.....	66
7. Conclusões.....	80
8. Referências Bibliográficas.....	81
APÊNDICE.....	89

LISTA DE ABREVIATURAS

CE	- Ceará
°C	- grau Celsius
ELISA	- Imunoabsorção Enzimática
FIOCRUZ	- Fundação Instituto Oswaldo Cruz
HBO	- Lâmpada especial de mercúrio
H ₂ O	- Água
H ₂ SO ₄	- Ácido sulfúrico
IBGE	- Instituto Brasileiro de geografia e Estatística
IFI	- Imunofluorescência Indireta
Kg	- Quilograma
<i>L. braziliensis</i>	- <i>Leishmania braziliensis</i>
<i>L. chagasi</i>	- <i>Leishmania chagasi</i>
<i>Lu. cruzi</i>	- <i>Lutzomyia cruzi</i>
<i>L. donovani</i>	- <i>Leishmania donovani</i>
<i>L. infantum</i>	- <i>Leishmania infantum</i>
<i>Lu. longipalpis</i>	- <i>Lutzomyia longipalpis</i>
<i>L. mexicana</i>	- <i>Leishmania mexicana</i>
M	- Molar
MG	- Minas Gerais
Mg	- Miligrama
mL	- Mililitro
MS	- Mato Grosso do Sul
NaCl	- Cloreto de Sódio
NaH ₂ PO ₄	- Dihidrogeno fosfato de sódio
Nm	- Nanômetros
OMS	- Organização Mundial de Saúde
PBS	- Tampão fosfato/salina
pH	- Potencial hidrogeniônico
<i>P. argentipes</i>	- <i>Phlebotomus argentipes</i>
<i>P. longipalpis</i>	- <i>Phlebotomus longipalpis</i>

RJ	- Rio de Janeiro
RN	- Rio Grande do Norte
rpm	Rotações por minuto
sid	- Once daily (a cada 24 horas)
SP	- São Paulo
<i>T. cruzi</i>	- <i>Trypanosoma cruzi</i>
<i>T. infestans</i>	- <i>Triatoma infestans</i>
<i>T. pseudomaculata</i>	- <i>Triatoma pseudomaculata</i>
<i>T. sordida</i>	- <i>Triatoma sordida</i>
TGI	- Trato gastrintestinal
TMB	- Tetrametilbenzidina
TO	- Tocantins
WHO	- World Health Organization
%	- Porcentagem
μL	- Microlitros

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figuras:

Figura 1: Formas amastigotas de <i>Leishmania</i> no interior dos macrófagos.....	18
Figura 2: Formas promastigotas metacíclicas de <i>Leishmania</i> no TGI do vetor.....	18
Figura 3: <i>Lycalopex vetulus</i>	20
Figura 4: <i>Cerdocyon thous</i>	20
Figura 5: <i>Didelphis marsupialis</i>	20
Figura 6: <i>Lutzomyia longipalpis</i>	21
Figura 7: <i>Phlebotomus argentipes</i>	21
Figura 8: Distribuição da leishmaniose visceral no mundo.....	23
Figura 9: Ciclo biológico da leishmaniose.....	26
Figura 10: Sintomatologia clínica da leishmaniose visceral canina.....	27
Figura 11: Leishmune – vacina contra leishmaniose canina.....	31
Figura 12: Forma tripomastigota do <i>T. cruzi</i> na circulação do hospedeiro vertebrado.....	33
Figura 13: Reservatórios da doença de Chagas.....	34
Figura 14: <i>Panstrongylus megistus</i>	35
Figura 15: <i>Triatoma infestans</i>	35
Figura 16: Ciclo biológico da doença de Chagas.....	38
Figura 17: Miocardiopatia dilatada chagásica em um cão.....	39
Figura 18: Crianças sendo sugadas por barbeiros, metodologia do xenodiagnóstico na época da descoberta da doença de Chagas.....	40
Figura 19: Localização geográfica de Mossoró.....	45

Tabelas - artigo 1:

Tabela 1: Soroprevalência de cães para <i>Leishmania chagasi</i> em área urbana e rural de Mossoró-RN, através dos testes IFI e ELISA.....	62
---	----

Tabela 2: Soroprevalência de cães da área urbana e rural de Mossoró-RN para <i>Leishmania chagasi</i> em relação ao habitat dos mesmos, através dos testes IFI e ELISA.	62
Tabela 3: Soroprevalência de cães da área urbana e rural de Mossoró-RN para <i>Leishmania chagasi</i> em relação aos carnívoros domésticos contactantes, através dos testes IFI e ELISA.	63
Tabela 4: Soroprevalência de cães da área urbana e rural de Mossoró-RN para <i>Leishmania chagasi</i> em relação ao sexo dos mesmos, através dos testes IFI e ELISA.	63
Tabela 5: Soroprevalência de cães da área urbana e rural de Mossoró-RN para <i>Leishmania chagasi</i> em relação à função exercida por eles, através dos testes IFI e ELISA.	64
Tabela 6: Soroprevalência de cães da área urbana e rural de Mossoró-RN para <i>Leishmania chagasi</i> em relação às criações peridomiciliares, através dos testes IFI e ELISA.	64

Tabelas – artigo 2:

Tabela 1: Soroprevalência de cães para <i>Trypanosoma cruzi</i> em área urbana e rural de Mossoró-RN, através dos testes IFI e ELISA.....	76
Tabela 2: Soroprevalência de cães da área urbana e rural de Mossoró-RN para <i>Trypanosoma cruzi</i> em relação à função exercida por eles, através dos testes IFI e ELISA.	76
Tabela 3: Soroprevalência de cães da área urbana e rural de Mossoró-RN para <i>Trypanosoma cruzi</i> em relação ao habitat dos mesmos, através dos testes IFI e ELISA.	77
Tabela 4: Soroprevalência de cães da área urbana e rural de Mossoró-RN para <i>Trypanosoma cruzi</i> em relação aos carnívoros contactantes, através dos testes IFI e ELISA.	77
Tabela 5: Soroprevalência de cães da área urbana e rural de Mossoró-RN para <i>Trypanosoma cruzi</i> em relação às criações peridomiciliares, através dos testes IFI e ELISA.	78

1. INTRODUÇÃO

Com a incursão do homem aos focos naturais, alterando o equilíbrio ecológico, houve a domiciliação dos vetores transmissores de zoonoses, dentre os quais aqueles relacionados com a transmissão de infecções como leishmaniose e tripanossomíase. Devido a grande susceptibilidade do homem e de alguns animais domésticos, particularmente o cão e o gato, a certas doenças infecto-parasitárias, tornou-se de grande importância o estabelecimento do ciclo doméstico de algumas infecções, como por exemplo, leishmaniose, tripanossomíase e toxoplasmose (Cabral *et al.*, 1998).

No que diz respeito à leishmaniose e a tripanossomíase, ambas são causadas por protozoários pertencentes à família *Trypanosomatidae*. Os cães e gatos são considerados os principais implicados, tanto qualitativa quanto quantitativamente na manutenção da transmissão dessas doenças em áreas endêmicas (Wisnivesk-Colli *et al.*, 1985). Esses animais são os principais reservatórios fora do ambiente silvestre (Feitosa *et al.*, 2000).

No que se refere ao presente estudo, no Município de Mossoró, Rio Grande do Norte, ambas as enfermidades são consideradas endêmicas, com destaque para a leishmaniose no perímetro urbano e para tripanossomíase no meio rural, tal asseveração incide de dados da Vigilância Sanitária do Município que relata que, no período de 2002-2003, foram diagnosticados 481 casos de leishmaniose visceral canina e 23 leishmaniose visceral humana, cuja prevalência anual no ano de 2002 foi 3,10% e em 2003 foi 3,06%.

Entretanto, apesar de se tratar de zoonoses com importante impacto na saúde pública e da atual situação endêmica do Município em questão, a vigilância sanitária da cidade nada tem a respeito da incidência e prevalência de ambas enfermidades em carnívoros domésticos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Leishmaniose

2.1.1 Histórico

A primeira descrição do parasita foi feita na Índia por William Leishman, em 1903, ao realizar uma autópsia em um cadáver de um soldado que foi internado no hospital de Netley, em abril de 1900, vindo da estação de Dum-Dum com disenteria e hepato-esplenomegalia (Veronesi e Focaccia, 2002).

Em 1908, Charles Nicolle demonstrou o papel do cão como hospedeiro de *Leishmania donovani*. Em 1924, R. Knowles, L. Napier e R. Smith identificaram o parasita no intestino do *Phlebotomus argentipes*. Porém, somente em 1942, a transmissão da *L. donovani* ao homem, pela picada do *P. argentipes*, foi definitivamente demonstrada, fechando assim o ciclo desta zoonose (Veronesi e Focaccia, 2002). Outro vetor, hoje considerado o mais importante na manutenção do ciclo dessa infecção, é *Lutzomyia longipalpis*, cujos primeiros registros de sua infecção pelo parasita foi demonstrada experimentalmente em humanos e raposas com diagnóstico de leishmaniose visceral em estudos realizados na década de 50 (Deane e Deane, 1955).

O registro do primeiro caso da doença no Brasil ocorreu em 1913, quando Mignone, no Paraguai, isolou o parasita em material de necropsia de um paciente oriundo de Boa Esperança, Mato Grosso (Alencar e Dietze, 1991). Em 1936, as pesquisas realizadas por Evandro Chagas no Pará revelaram a infecção espontânea de cães domésticos pelo agente etiológico da leishmaniose visceral. Contudo, nessa época o cão e o homem ainda eram considerados apenas hospedeiros secundários (Deane e Deane, 1955). No ano seguinte, Cunha e Chagas estabeleceram o agente etiológico no Brasil pela denominação de *L. donovani chagasi* (Veronesi e Focaccia, 2002).

Durante a década de 50, Deane e Deane (1955), estudando a leishmaniose no Ceará, estabeleceram a importância epidemiológica de *Lu. longipalpis* como vetor, e do cão doméstico, da raposa e do homem como fontes de infecção e manutenção da doença.

Somente, no período de 1953 a 1965 a leishmaniose foi plenamente reconhecida como endêmica no Brasil, destacando-se os focos de Sobral no Ceará (Veronesi e Focaccia, 2002). O estudo da leishmaniose visceral canina no Ceará revelou informações de suma importância sobre as características dessa doença nas Américas. Esses estudos também demonstraram a correlação da infecção humana relativamente alta, com a larga distribuição da infecção em cães, esse reservatório doméstico teve um papel fundamental na expansão da doença em áreas endêmicas (Vasconcelos *et al.*, 1988).

2.1.2 Agente etiológico

Os protozoários flagelados do gênero *Leishmania* (figuras 1 e 2) são causadores de enfermidades zoonóticas que acometem o sistema fagocítico mononuclear (Moura *et al.*, 1999). Por suas características clínico-epidemiológicas, a enfermidade pode ser classificada como leishmaniose cutânea, muco-cutânea, cutânea difusa e visceral (Moura *et al.*, 1999; Feitosa *et al.*, 2000).

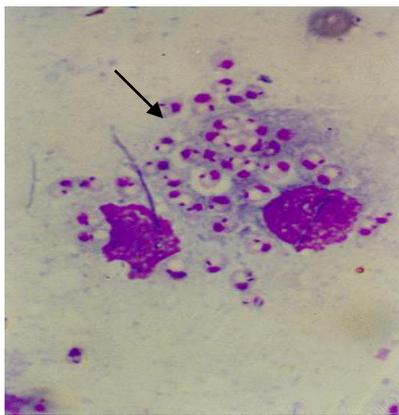


Figura 1: Formas amastigotas de *Leishmania* (seta) no interior dos macrófagos. (Fonte: Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, 2002)

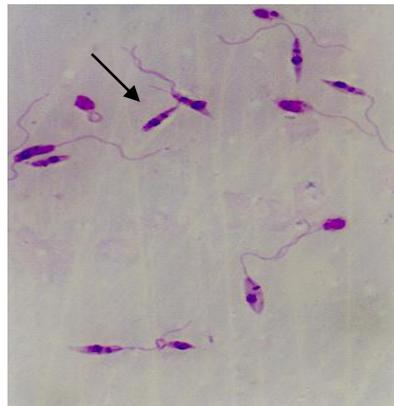


Figura 2: Formas promastigotas metacíclicas de *Leishmania* (seta) no TGI do vetor. (Fonte: Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, 2002)

A *L. donovani* é a responsável pela moléstia visceral e cutânea tanto no Velho Mundo quanto no Novo Mundo, enquanto que a *Leishmania mexicana* e a *Leishmania braziliensis* causam as moléstias cutânea e muco-cutânea apenas no Novo Mundo (Ettinger e Feldman, 1997). Os parasitas responsáveis pela leishmaniose visceral estão agrupados no chamado complexo donovani, e são reconhecidas, atualmente, três espécies como agentes etiológicos da doença: *L. donovani*, *Leishmania infantum* e *Leishmania chagasi*. No Novo

Mundo, a *L. chagasi* é a espécie comumente isolada em pacientes com leishmaniose visceral (Ministério da Saúde, 2003).

A leishmaniose visceral adquire algumas denominações, tais como: na Índia, esta é conhecida como kala-azar (que em hindu significa doença mortífera) ou febre de Dum-Dum; Já no Mediterrâneo é conhecida como leishmaniose infantil ou visceral e no Brasil como leishmaniose visceral ou calazar (Neves *et al.*,1995).

2.1.3 Reservatórios

Quanto aos reservatórios os cães são os principais reservatórios domésticos e têm sido encontrados infectados em todos os focos onde há doença humana, sendo considerados então, o principal elo na cadeia de transmissão da leishmaniose (Alencar, 1961; Neves *et al.*, 1995). É importante ainda ressaltar que, sua prevalência na população canina é maior do que na humana, uma vez que os casos humanos normalmente são precedidos por casos caninos (Moura *et al.*,1999; Feitosa *et al.*, 2000). Associado a isso está sua alta disseminação, que já tinha sido relatada nas pioneiras pesquisas de Alencar *et al.* (1956), a partir de um estudo realizado no Estado do Ceará, no qual relataram que em virtude da função exercida pelos cães (vigilância e/ou caça) estes poderiam ser importantes reservatórios da leishmaniose.

A raposa (*Lycalopex vetulus*) adquire grande importância na cadeia de transmissão da leishmaniose (figura 3). Antes mesmo dos estudos preliminares de Deane e Deane (1955), pesquisadores como Evandro Chagas, admitiam a existência de um animal silvestre que agiria como reservatório primitivo da infecção. Mas a comprovação desse fato só foi constatada nos estudos de Deane e Deane (1950), onde foi encontrado parasitismo por leishmanias nesses animais, na mesma área onde havia cães domésticos infectados. Além disso, identificaram ainda que tanto a raposa, quanto o cão e o homem foram infectados pela mesma espécie de flebotomo, na época denominado *Phlebotomus longipalpis*. Esses achados indicaram que, no Ceará, havia pelo menos três mamíferos hospedeiros naturais da *L. donovani*: o homem, o cão e a raposa (Deane e Deane, 1955). A existência da raposa como reservatório campestre explica a ocorrência dos casos esporádicos que

foram assinalados em certas zonas, aparentemente sem relação com outros casos humanos e caninos (Deane e Deane, 1955).



Figura 3: *Lycalopex vetulus* (Fonte: Foto gentilmente cedida pelo Ribeiro, 2003)

Ainda nesse período, a leishmaniose visceral passou a ser veemente considerada uma zoonose de canídeos transmitida eventualmente ao homem, embora sua importância como reservatório não fosse pequena. Contudo, eram o cão e a raposa os principais reservatórios (Alencar, 1961).

Atualmente, no ambiente silvestre, os reservatórios considerados são as raposas (*Dusicyon vetulus* e *Cerdocyon thous*), os marsupiais (*Didelphis marsupialis*) (figuras 4 e 5). No Brasil, as raposas foram encontradas infectadas nas regiões Nordeste, Sudeste e no Estado da Amazônia. Os marsupiais didelfídeos foram encontrados infectados no Brasil e na Colômbia (Ministério da Saúde, 2003).



Figura 4: *Cerdocyon thous* (Fonte: Foto gentilmente cedida pelo Ribeiro, 2003)



Figura 5: *Didelphis marsupialis* (Fonte: Foto gentilmente cedida pelo Ribeiro, 2003)

Provavelmente em consequência da marcada urbanização da leishmaniose (Desjeux, 2002), pesquisadores acreditam que outras espécies domésticas também podem infectar-se e adoecer, podendo até mesmo ser incluídas na epidemiologia da doença em focos endêmicos (Pennisi, 2002; Simões-Mattos, 2002). Desde o início do século 20, durante as primeiras investigações sobre a leishmaniose já se especulava sobre o papel dos felinos domésticos na epidemiologia dessa zoonose, quando casos de leishmaniose felina foram diagnosticadas entre outras espécies animais. Assim, investigações epidemiológicas (Gimeno Ondovilla, 1933; Chagas *et al.*, 1938) e reprodução experimental da doença (Mello, 1940) foram realizadas em gatos. Porém, resultados incertos levaram ao abandono desses estudos. No entanto, ao final do século 20, um maior número de casos de leishmaniose felina foi diagnosticada, o que levou alguns investigadores a especular novamente o papel de gatos como reservatório da leishmaniose em focos endêmicos (Pennisi, 2002; Simões-Mattos, 2002). Porém, esses estudos ainda são poucos e insuficientes e muitas perguntas ainda não foram elucidadas.

2.1.4 Vetores

Os vetores atualmente implicados na transmissão da leishmaniose consistem de várias espécies do gênero *Lutzomyia*, dentre as quais destaca-se a *Lu. longipalpis* (figura 6) (Feitosa *et al.*, 2000). No contexto histórico, o primeiro inseto identificado com o parasita em seu intestino foi o *P. argentipes* (figura 7) (Veronesi e Focaccia, 2002).



Figura 6: *Lutzomyia longipalpis*. (Fonte: Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, 2002)



Figura 7: *Phlebotomus argentipes*. (Fonte: Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, 2002)

No Brasil, duas espécies, até o momento, estão relacionadas com a transmissão da doença *Lu. longipalpis* e *Lutzomyia cruzi*. A primeira espécie é considerada a principal espécie transmissora da *L. chagasi* no Brasil e, recentemente, *Lu. cruzi* foi incriminada como vetora no Estado do Mato Grosso do Sul. Nas regiões Norte e Nordeste, a *Lu. longipalpis* era encontrada originalmente nas matas participando do ciclo primário de transmissão da doença (Ministério da Saúde, 2003).

Progressivamente, houve a adaptação desse inseto no ambiente rural, a qual foi somada à presença de animais silvestres e sinantrópicos. Ao final da década de 80, verificou-se a adaptação deste vetor aos ambientes urbanos, em periferias de grandes centros, principalmente na Região Sudeste. Estes vetores são encontrados no peridomicílio, em galinheiros, chiqueiro, canil, paiol entre outros ambientes e também no intradomicílio (Ministério da Saúde, 2003).

Em relação às características climáticas ideais para o desenvolvimento dos vetores, estes são mais comumente encontrados em áreas com teor de umidade e temperatura ambiente relativamente alta. Estas condições imperam no clima tropical encontrado aqui no Brasil. Fato que já havia sido observado por Alencar *et al.*, (1956), durante suas pesquisas no Vale do Jaguaribe (CE), onde foi observada uma maior concentração do vetor nas margens do rio Jaguaribe, onde o teor de umidade e o calor da região eram consideráveis.

2.1.5 Epidemiologia

As transformações no ambiente, provocadas pelo intenso processo migratório, por pressões econômicas ou sociais, a pauperização conseqüente de distorções na distribuição de renda, o processo de urbanização crescente, o esvaziamento rural e as condições climáticas como secas periódicas, agem como coadjuvantes na expansão das áreas endêmicas dessa zoonose e no aparecimento de novos focos (Alencar, 1961). Este fenômeno leva a uma redução do espaço ecológico do vetor, facilitando a ocorrência de epidemias (Ministério da Saúde, 2003).

Na cidade de Sobral, por exemplo, houve na década de 50 uma concentração de casos de leishmaniose visceral alóctones. Os cães freqüentemente acompanhavam as famílias nordestinas em suas migrações, o que foi comprovado em inquérito sobre a leishmaniose visceral canina em Sobral, onde dentre os animais acometidos, alguns tinham sido trazidos por seus donos de localidades rurais, algumas das quais eram focos de leishmaniose visceral. O que já indicava que o homem e o cão doentes eram potencialmente responsáveis pelo aparecimento de leishmaniose visceral em localidades para onde migravam ou por onde passavam, desde que nestas áreas existissem os transmissores (Deane e Deane, 1955). Tal como na cidade de Sobral, no Vale do Jaguaribe, ainda no Estado do Ceará, também foram detectados alguns casos urbanos da infecção, não somente em humanos como também em cães (Alencar *et al.*, 1956).

A transmissão da doença vem sendo descrita em vários municípios de todas as regiões do Brasil, exceto na região Sul. Na América Latina, a doença já foi descrita em pelo menos 12 países sendo que 90% dos casos ocorreram no Brasil (figura 8), especialmente na Região Nordeste. Na década de 90, aproximadamente 90% dos casos notificados de leishmaniose visceral ocorreram na região Nordeste. À medida que a doença se expandiu para as outras regiões e atingiu áreas urbanas e periurbanas, esta situação veio se modificando e, no período de 2000 a 2002, a região Nordeste já apresentava uma redução para 77% dos casos do País (Ministério Da Saúde, 2003).



Figura 8: Distribuição da leishmaniose visceral no mundo. (Fonte: Moraes, 2003)

A doença tem apresentado mudanças importantes no padrão de transmissão, inicialmente predominando características de ambientes rurais e periurbanas e, mais recentemente, em centros urbanos como Rio de Janeiro (RJ), Corumbá (MS), Belo Horizonte (MG), Araçatuba (SP), Palmas (TO), Três Lagoas (MS), Campo Grande (MS), entre outros. Atualmente, no Brasil a leishmaniose visceral está registrada em 19 das 27 unidades da federação, com aproximadamente 1.600 municípios apresentando transmissão autóctone. (Ministério Da Saúde, 2003). Os focos de maior endemicidade no Brasil são registrados nos Estados da Bahia, Ceará, Piauí, Rio Grande do Norte e na Cidade de São Luis do Maranhão (Veronesi e Focaccia, 2002).

As leishmanioses são consideradas primariamente como uma zoonose podendo acometer o homem, quando este entra em contato com o ciclo de transmissão do parasita, transformando-se em uma antropozoonose. A leishmaniose encontra-se entre as sete endemias considerada prioritária no mundo (WHO, 1990). Devido ao seu caráter endêmico em várias regiões do mundo, afeta de um a dois milhões de pessoas por ano, havendo aproximadamente 500.000 casos novos de leishmaniose a cada ano (Veronesi e Focaccia, 2002).

Estima-se que uma população de aproximadamente 360 milhões de pessoas está exposta ao risco de infecção pela leishmaniose no globo terrestre. O que fez desta doença uma enfermidade de notificação obrigatória em 27 países do Novo Mundo e 67 países do Velho Mundo (Veronesi e Focaccia, 2002).

2.1.6 Mecanismo de Transmissão

A transmissão da leishmaniose ocorre principalmente por via vetorial, através da picada da fêmea do gênero *Lutzomyia* no Novo Mundo ou de *Phlebotomus* no Velho Mundo. As formas promastigotas infectantes são inoculadas durante o repasto sanguíneo do vetor. (Neves *et al.*, 1995).

Alguns autores admitem a hipótese da transmissão entre a população canina através da ingestão de carrapatos infectados e mesmo através de mordeduras, cópula, ingestão de vísceras contaminadas, porém não existem evidências sobre a importância epidemiológica destes mecanismos de

transmissão para humanos ou na manutenção da enzootia. A transmissão ocorre enquanto houver o parasitismo na pele ou no sangue periférico do hospedeiro (Ministério Da Saúde, 2003).

2.1.7 Ciclo Biológico

As fêmeas flebotomíneas infectadas contaminam o hospedeiro vertebrado ao realizarem seu repasto sanguíneo, liberando as formas promastigotas metacíclicas do parasita juntamente com sua saliva (1). Na epiderme do hospedeiro, estas formas são fagocitadas por células do sistema mononuclear fagocitário. No interior dos macrófagos, no vacúolo parasitóforo, diferenciam-se em amastigotas (2) e multiplicam-se intensamente até o rompimento dos mesmos, ocorrendo à liberação destas formas que serão fagocitadas por novos macrófagos num processo contínuo (3), ocorrendo então a disseminação hematogênica para outros tecidos ricos em células do sistema mononuclear fagocitário, como linfonodos, fígado, baço e medula óssea (4) (Ministério da Saúde, 2003).

A atividade dos flebotomíneos é crepuscular e noturna. No intra e peridomicílio, *Lu. longipalpis* é encontrado, principalmente, próximo a uma fonte de alimento. Durante o dia, estes insetos ficam em repouso, em lugares sombreados e úmidos, protegidos do vento e de predadores naturais. A infecção do vetor ocorre quando as fêmeas, ao sugarem o sangue de mamíferos infectados (5), ingerem macrófagos parasitados por formas amastigotas da *Leishmania*. No trato digestivo anterior ocorre o rompimento dos macrófagos liberando essas formas. Reproduz-se por divisão binária e diferencia-se rapidamente em formas flageladas denominadas de promastigotas, que também se reproduzem por processos sucessivos de divisão binária. As formas promastigotas transformam-se em paramastigotas as quais colonizam o esôfago e a faringe do vetor, onde permanecem aderidas ao epitélio pelo flagelo, quando se diferenciam em formas infectantes - promastigotas metacíclicas (6). O ciclo do parasita no inseto se completa em torno de 72 horas (Ministério da Saúde, 2003) (figura 9).

2.1.8 Sintomatologia

A doença no cão é de evolução lenta e início insidioso. A leishmaniose visceral canina é uma doença sistêmica severa cujas manifestações clínicas estão intrinsecamente dependentes do tipo de resposta imunológica expressa pelo animal infectado. O quadro clínico dos cães infectados apresenta um espectro de características clínicas que varia do aparente estado sadio a um severo estágio final (Ministério da Saúde, 2003).

Classicamente, a leishmaniose visceral canina apresenta lesões cutâneas, principalmente descamação e eczema, em particular no espelho nasal e orelha, pequenas úlceras rasas, localizadas mais frequentemente em nível das orelhas, focinho, cauda e articulações e pêlo opaco.

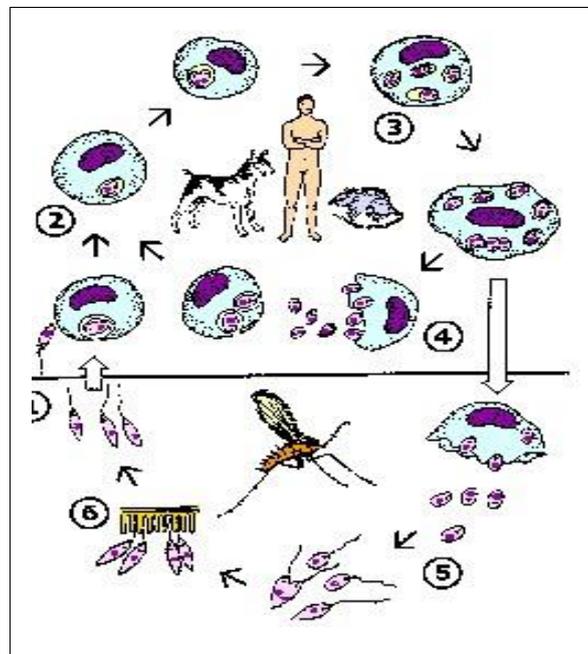


Figura 9: Ciclo biológico da leishmaniose: 1- infecção do hospedeiro pela picada do vetor; 2- fagocitose e diferenciação do parasita; 3- multiplicação do parasita, rompimento dos macrófagos e novas fagocitoses; 4- disseminação hematogênica; 5- contaminação do vetor durante seu repasto sanguíneo; 6- ciclo do parasita no sistema digestivo do vetor. (Fonte: Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, 2002).

Nas fases mais adiantadas da doença, observam-se, com grande frequência, onicogribose, esplenomegalia, linfadenopatia, alopecia, dermatites, úlceras de pele, ceratoconjuntivite, coriza, apatia, diarreia,

hemorragia intestinal, edema de patas e vômito, além da hiperqueratose. Na fase final da infecção, ocorre, em geral, a paresia das patas posteriores, caquexia, inanição e morte (figura 10). Entretanto, cães infectados podem permanecer sem sinais clínicos por um longo período de tempo (Ministério da Saúde, 2003).

A perda de pêlos tem sido explicada pela ação direta do parasita sobre o folículo piloso ou por um distúrbio do metabolismo do ácido pantotênico decorrente de lesões hepáticas, ou ainda, por deposição de imunocomplexos na pele, induzindo a um processo auto-imune que desencadearia a alopecia (Neves *et al.*, 1995).

O crescimento anormal das unhas, característica das mais marcantes, tem sido explicado pelo estímulo da matriz ungueal pelo próprio parasita, mas é provável que a apatia do animal doente, que resulta na diminuição dos movimentos, seja a principal responsável pelo não desgaste natural das unhas (Neves *et al.*, 1995).



Figura 10: Sintomatologia clínica da leishmaniose visceral canina [Fonte: Moraes (2003), adaptado por Amóra, 2004]

2.1.9 Diagnóstico

- Clínico

O diagnóstico clínico da leishmaniose visceral é difícil de ser determinado devido à grande porcentagem de cães assintomáticos ou oligossintomáticos existentes. A doença apresenta semelhança com outras enfermidades infecto-contagiosas que acometem os cães, permitindo que o diagnóstico clínico seja possível quando o animal apresenta sinais clínicos comuns à doença, como descrito anteriormente, ou quando o animal for procedente de regiões ou áreas de transmissão estabelecida. No entanto, em áreas cujo padrão socioeconômico é baixo, outros fatores podem estar associados dificultando o diagnóstico clínico, especialmente as dermatoses e a desnutrição, mascarando ou modificando o quadro clínico da leishmaniose visceral canina (Ministério da Saúde, 2003).

- Laboratorial

O **diagnóstico parasitológico** é um método confiável e se baseia na demonstração do parasita, que é abundante nos órgão linfóides e fígado. Na pele, a intensidade do parasitismo varia bastante e o exame de esfregaços por aposição deve ser feito com cautela (Neves *et al.*,1995). A punção aspirativa esplênica é o método que oferece maior sensibilidade (90-95%) para demonstração do parasita, seguida pelo aspirado de medula óssea, biópsia hepática e a aspiração de linfonodos. Entretanto, alguns desses procedimentos, embora ofereçam a vantagem da simplicidade, são métodos invasivos, significando a ocorrência de riscos para o animal e também impraticáveis em programas de saúde pública, em que um grande número de animais deva ser avaliados em curto espaço de tempo (Ministério da Saúde, 2003).

- Métodos Indiretos

O **diagnóstico sorológico** da leishmaniose canina é semelhante ao diagnóstico da doença na espécie humana, as provas sorológicas mais empregadas atualmente são a Imunofluorescência Indireta (IFI), Imunoabsorção Enzimática (ELISA), Fixação de Complemento e Aglutinação

Direta (Feitosa *et al.*, 2000). Atualmente, para inquéritos em saúde pública os exames disponíveis para diagnóstico sorológico são IFI e ELISA, que expressam os níveis de anticorpos circulantes. O material recomendado é o soro sanguíneo. Essas duas técnicas sorológicas são recomendadas pelo Ministério da Saúde para avaliação da soroprevalência em inquéritos caninos amostrais e censitários. O ELISA está sendo recomendado para a triagem de cães sorologicamente negativos e IFI para a confirmação dos cães soro-reagentes ao teste ELISA ou como uma técnica diagnóstica de rotina. A IFI tem sido amplamente utilizada para o diagnóstico de várias doenças parasitárias, podendo ser observadas reações cruzadas principalmente entre a leishmaniose visceral, leishmaniose tegumentar americana e a doença de Chagas. O resultado considerado soro-reagente é aquele que possui título igual ou superior ao ponto de corte que é a diluição de 1/40 (Ministério da Saúde, 2003).

- Métodos Moleculares

A **Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)**, utiliza *primers* do rRNA para identificação do parasita na amostra obtidos de aspirado da medula óssea, linfonodos, biópsias de pele ou de sangue total heparinizado. Este teste possui sensibilidade e especificidade elevadas. É utilizado para diagnóstico da doença, monitoramento de pacientes humanos durante e após o tratamento, além da própria identificação da espécie do parasita. Sua principal desvantagem se refere ao custo elevado (Moraes, 2003).

2.1.10 Tratamento

Ao contrário do que ocorre com a doença humana, o tratamento da leishmaniose canina pelos antimoniais é considerado pouco eficiente (Neves *et al.*, 1995). Pois não diminui sua importância como reservatório do parasita. As tentativas de tratamento por meio de drogas tradicionalmente empregadas (antimoniato de meglumina, anfotericina B, isotionato de pentamidina, alopurinol, cetoconazol, fluconazol, miconazol, itraconazol), tem tido baixa

eficácia. O uso rotineiro de drogas em cães induz à remissão temporária dos sinais clínicos, não previne a ocorrência de recidivas, tem efeito limitado na infectividade de flebotomíneos e leva ao risco de selecionar parasitas resistentes às drogas utilizadas para o tratamento humano (Ministério da Saúde, 2003).

Por outro lado, outros pesquisadores relatam que, em consequência da falta de alternativas, o glucantime® (antimoniato de meglumina) ainda é considerado o medicamento mais efetivo para o tratamento da leishmaniose canina. Os regimes de dosagem são muito variáveis (Ettinger e Feldman, 1997), entretanto no Brasil, a dosagem utilizada para tratamento canino é aproximadamente 10 vezes maior do que o recomendado para tratamento humano, ou seja, 200mg/kg/sid (Luna, 2004). Na maioria dos pacientes, as lesões se resolvem durante o curso do tratamento, porém cães com afecção gastrintestinal ou hepática graves talvez não exibam melhoras. Infelizmente, em sua maioria, os pacientes recidivam dentro de poucos meses até um ano de tratamento (Ettinger e Feldman, 1997).

Resultados tão instáveis sobre o tratamento com o glucantime® podem ser explicados por uma resistência à droga adquirida em consequência do aumento no período de tratamento, observada a partir de uma dessensibilização do parasita e pelo abandono do tratamento por parte dos proprietários após observarem uma cura clínica em pouco tempo de tratamento além do custo elevado da droga, o que favorece ainda mais a seleção de cepas resistentes. Além desses fatos, o tratamento é bastante doloroso (Moraes, 2003).

Diante do exposto e conforme parecer nº 0299/2004 da Advocacia Geral da União, fica proibido o uso do antimoniato de n-metil glucamina (antimoniato de meglumina) para o tratamento da leishmaniose canina, quando o mesmo for de distribuição do Ministério da Saúde (Luna, 2004).

2.1.11 Profilaxia e Controle

Nas áreas endêmicas, é difícil a prevenção da moléstia. Os cães devem ser mantidos dentro de canis livres dos flebotomíneos, desde uma hora antes do pôr-do-sol até uma hora após o nascer-do-sol. Para proprietários que

vivem em países livres da *Leishmania*, é melhor deixar os animais em casa, ao visitar regiões endêmicas. Nas regiões não-endêmicas, é baixo o risco de transmissão da *Leishmania* de cães para o ser humano; e em regiões sem o vetor praticamente não existe risco, mesmo quando ocorre contato íntimo com cão infectado (Ettinger e Feldman, 1997).

As estratégias de controle, até então utilizadas, estavam centradas e dirigidas verticalmente para o controle do reservatório canino (inquérito sorológico canino e eutanásia em cães prevalentes), bem como para a aplicação de inseticidas, diagnóstico e tratamento adequado dos casos registrados. Entretanto, essas medidas, muitas vezes realizadas de forma isolada, não apresentaram efetividade para redução da incidência da doença, determinando a necessidade de reavaliação das ações propostas pelo Programa de Controle da Leishmaniose Visceral (PCLV) (Ministério da Saúde, 2003). Esta problemática já havia sido observada nas pesquisas realizadas por Alencar e Cunha (1963) no Ceará, onde medidas isoladas de controle mostraram-se ineficazes.

Tendo em vista as dificuldades de controle da doença, a metodologia proposta para a vigilância e adoção de medidas, baseia-se em uma melhor definição das áreas de transmissão ou de risco. O novo enfoque é o de incorporar os Estados e Municípios silenciosos, ou seja, sem ocorrência de casos humanos ou caninos da doença, nas ações de vigilância, visando assim minimizar os problemas referentes a este agravo em áreas sem transmissão. Nas áreas com transmissão de leishmaniose visceral, após estratificação epidemiológica, as medidas de controle serão distintas e adequadas para cada área a ser trabalhada, entretanto, é de fundamental importância que as medidas usualmente empregadas no controle da doença sejam realizadas de forma integrada, para que possam ser efetivas (Ministério da Saúde, 2003).

Quanto à vacina, o Brasil desenvolveu a primeira vacina do mundo contra a leishmaniose visceral canina. Estudos comprovaram que a imunização de cães pode ajudar a reduzir significativamente o número de casos, e até erradicá-los, uma vez que não existe vacina para humanos. Chamada Leishmune (figura 11), a vacina foi desenvolvida pela equipe da bióloga Clarisa Palatnik de Sousa, da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), depois

de 20 anos de pesquisas (O Globo, 15/08/03). O imunizante já foi licenciado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, porém sem constatação de seu custo-benefício e efetividade para o controle do reservatório da leishmaniose visceral canina em programas de saúde pública, ainda não foi liberado para comercialização (Werkhauser, 2004).



Figura 11: Leishmune – vacina contra leishmaniose canina (Fonte: Foto gentilmente cedida pelo Ribeiro, 2003)

2.2 TRIPANOSSMÍASE

A Tripanossomíase Americana ou doença de Chagas é uma enfermidade infecciosa e parasitária provocada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* e transmitida por insetos triatomíneos, conhecidos por barbeiro. O nome da doença é uma homenagem ao cientista e médico brasileiro Carlos Chagas, descobridor do agente causador e da sua forma de transmissão. Caracteriza-se como uma endemia rural infectando grande parte da América Central e do Sul (Monteiro, 2002).

2.2.1 Histórico

Em 1908, Carlos Chagas, realizando estudos sobre a malária em Lassance, Minas Gerais, descobriu no intestino de triatomíneos numerosos parasitas flagelados com características morfológicas de um tripanossomatídeo. Ao submeter macacos às picadas desses insetos, observou-se em um deles a presença de tripanossomas em seu sangue periférico, e passou a denominar este parasita de *T. cruzi*. Posteriormente, ele encontrou o mesmo parasita no sangue de uma criança e demonstrou ser este parasita a causa de uma doença endêmica muito comum no interior do Brasil. Este é o único caso da história da medicina em que o agente etiológico, seu transmissor e as manifestações clínicas da doença foram descritas pelo mesmo investigador (Veronesi e Focaccia, 2002).

A primeira referência à existência da endemia no Nordeste brasileiro também se deve a Carlos Chagas que, numa entrevista, em 1911, relatou que a infecção estava presente em Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso, “sul da Bahia” e talvez, São Paulo. Posteriormente, a tripanossomíase foi detectada no Nordeste especialmente a partir do relato de triatomíneos domiciliados em vastas extensões da Bahia, de Pernambuco, de Sergipe e do Ceará (Dias *et al.*, 2000).

No Ceará, em 1921, Gavião Gonzaga verificou triatomíneos infectados no Cariri e em Quixadá, tendo sido diagnosticados os primeiros casos humanos, por xenodiagnóstico, somente em 1942 (Alencar, 1987).

2.2.2 Agente etiológico

A doença de Chagas é ocasionada pelo protozoário hemoflagelado *T. cruzi* (Camacho, 2003), pertencente à família *Trypanosomatidae*. No sangue circulante do hospedeiro vertebrado, estes protozoários apresentam-se sob a forma de tripomastigotas (figura 12) (Veronesi e Focaccia, 2002).

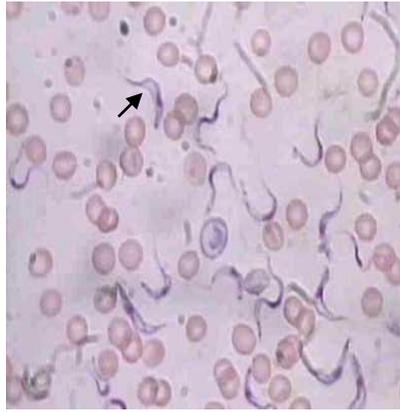


Figura 12: Forma tripomastigota do *T. cruzi* (seta) na circulação do hospedeiro vertebrado. (Fonte: Souto Jr. e Ribeiro, 2002)

2.2.3 Reservatórios

Primitivamente uma enzootia de animais silvestres, faz seu ciclo em tatus e outros animais (figura 13) (Camacho, 2003). No Brasil, além do homem outros animais têm sido reconhecidos como reservatório da tripanossomíase (figura 13). A lista dos animais silvestres já encontrados com infecção natural por *T. cruzi* é considerável. Nela se encontram os marsupiais, principalmente o gambá (*Didelphis marsupialis*) provavelmente o reservatório silvestre mais importante. Outro animal silvestre reconhecido como reservatório desde os estudos pioneiros de Carlos Chagas é o tatu (*Dasybus novemcinctus*). Os roedores também têm chamado atenção por suas taxas de positividade entre 10-20%, como por exemplo, cotia (*Dasyprocta azarae*), rato-do-campo (*Akodon arviculoides*) e preá (*Cavia aperea*). Quanto aos morcegos, várias espécies espécies dos gêneros *Desmodus*, *Eumops*, *Phyllostomus* etc. são comprovadamente reservatórios de *T. cruzi*, sendo importantes não só pela mobilidade e adaptação fácil ao domicílio humano, como altas taxas de parasitismo (Rey, 2001).

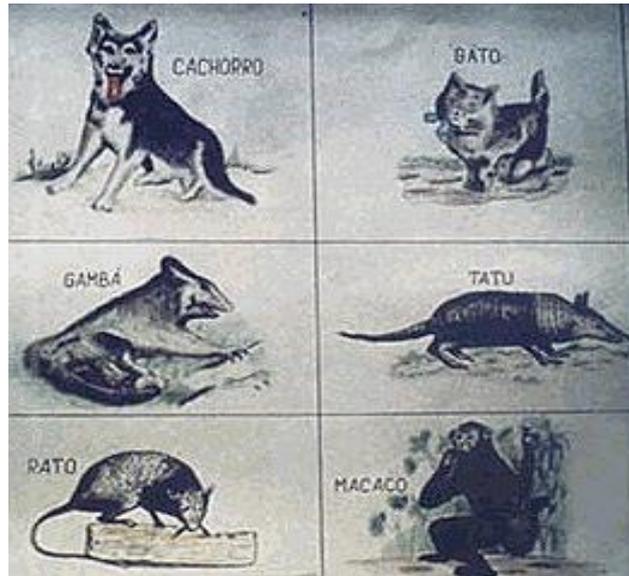


Figura 13: Reservatórios da doença de Chagas.
(Fonte: Insetário da Sucen, Mogi-Guaçu, 2002)

Cães e gatos são considerados os principais reservatórios domésticos para a infecção humana pelo *T. cruzi*, uma vez que foi constatado que em casas com cães ou gatos infectados o padrão de soropositividade dos membros da residência é maior do que de pessoas que residem em casas cujos animais não estão infectados (Mott *et al.*, 1979). No entanto, por conta do hábito dos gatos de permanecerem a maior parte do tempo fora de casa, os cães são considerados os principais contribuintes, tanto qualitativa quanto quantitativamente, para a manutenção da transmissão da doença, principalmente em áreas endêmicas (Wisnivesky-Colli *et al.*, 1985), e são tidos como principal fonte de sangue para *Triatoma infestans* (barbeiro) e outros triatomíneos, seguidos por humanos e aves (Fernandes *et al.*, 1992; Mott *et al.*, 1979). Desde que Carlos Chagas, em 1909, assinalou o gato, primeiro animal doméstico naturalmente infectado, em diversas localidades de diferentes países este e outros animais têm sido encontrados com naturalmente infectados por este protozoário (Gonçalves da Costa, 1999).

Outros animais ainda participam da ecologia da tripanossomíase, ainda que o parasita não tenha competência para infectá-los, porém, as aves principalmente exercem esse papel, pelo fato básico de constituírem a fonte alimentar fundamental da maioria dos triatomíneos (Dias e Coura, 1997).

2.2.4 Vetores

Em termos de importância para a saúde pública, considerando-se seletivamente as taxas de dispersão, infecção predial, colonização do intradomicílio, infecção natural pelo *T. cruzi*, antropofilia e número total de capturas, as espécies triatomínicas responsáveis pela ocorrência da tripanossomíase no Nordeste brasileiro têm sido basicamente *Triatoma braziliensis*, *Panstrongylus megistus* (figura 14), *Triatoma infestans* (figura 15), *Triatoma pseudomaculata* e ainda, provavelmente, *Rhodnius nasutus* e *Triatoma sordida* (Dias *et al.*, 2000).



Figura 14: *Panstrongylus megistus*. (Fonte: Insetário da Sucen, Mogi-Guaçu, 2002)



Figura 15: *Triatoma infestans*. (Fonte: Insetário da Sucen, Mogi-Guaçu, 2002)

2.2.5 Epidemiologia:

A tripanossomíase era, primitivamente, uma doença enzoótica circulando somente entre animais silvestres, passou a ser uma zoonose a partir do contato do homem com os focos naturais e o desequilíbrio ecológico daí resultante. Tais focos são extremamente variados, já que o *T. cruzi* circula em muitas espécies de mamíferos, aves e de triatomíneos. Além disso, os diferentes quadros clínicos da tripanossomíase com localizações geográficas distintas, a heterogeneidade das subpopulações do parasita e a circulação destas subpopulações na natureza, constituem-se em um quebra-cabeça

epidemiológico para o qual faltam ainda muitas respostas (Gonçalves da Costa, 1999).

A tripanossomíase disseminou-se entre as populações rurais latino-americanas, acompanhando, nos últimos três séculos, os movimentos migratórios do homem, que invadia os locais naturais em que viviam os barbeiros. Recentemente, essa doença vem se tornando mais urbana, entre outras razões, em decorrência dessa crescente migração e pelo aumento do número de transfusões de sangue (Souto Jr. e Ribeiro, 2002). Quanto aos focos periurbanos, estes têm sido detectados há décadas e resultam tanto da contínua migração rural-urbana na região como da pobreza e do aspecto semi-rural dos bairros periféricos de muitas cidades (Dias *et al.*, 2000).

Parasitose exclusiva do continente americano (Brener e Andrade, 1979), constitui ainda hoje, um importante problema de saúde pública na América Latina. Estudos epidemiológicos realizados em diversos países latino-americanos, apresentam altas taxas de prevalência. Podemos avaliar a amplitude deste problema se considerarmos que o número de pessoas, atualmente infectadas, ultrapassa os 15 milhões (Uchôa *et al.*, 2002).

A tripanossomíase apresenta-se como a quarta principal endemia das Américas (Souto Jr. e Ribeiro, 2002), acometendo entre 16 e 18 milhões de pessoas e expondo a risco de contrair a doença outros 90 milhões (Aras *et al.*, 2003 e Camacho, 2003). Concentra-se nas zonas rurais e urbanas mais pobres, onde a proliferação dos barbeiros é facilitada pelo baixo nível das condições sociais, em virtude da má qualidade das habitações (Souto Jr. e Ribeiro, 2002).

A região Nordeste ocupa importância acentuada, tendo sido a segunda em número de infectados e de índices de infestação triatomínica nos inquéritos nacionais de prevalência e distribuição dos vetores entre 1975 e 1980. Passado 20 anos, a região ainda preocupa em termos de risco de transmissão, lembrando-se, por exemplo, que em 1996, o Programa de Controle da Doença de Chagas da Fundação Nacional de Saúde capturou 290.576 triatomíneos, sendo o Nordeste a região com maior número de capturas, 69,2% (Dias *et al.*, 2000).

Apesar dos vetores e do agente etiológico estarem largamente distribuídos, desde o norte dos Estados Unidos até o Sul da Argentina, a

maioria dos casos de infecção humana é registrada nos países da América Latina (Gonçalves da Costa, 1999).

No Brasil, as maiores taxas de prevalência foram encontradas no Rio Grande do Sul, em parte de São Paulo, em Minas Gerais, Bahia, Goiás, sul de Tocantins e em alguns estados do nordeste (especialmente Paraíba, Pernambuco, Piauí e Ceará) (Veronesi e Focaccia, 2002).

2.2.6 Mecanismo de Transmissão

Desde a descoberta da tripanossomíase, sua transmissão através do vetor tem sido descrita como o modo mais importante de sua transmissão, encontrando-se intimamente relacionada com fatores como: densidade, domiciliação, níveis de infecção, número de repastos realizados, tempo decorrido entre a picada e a dejeção desses insetos etc (Silva *et al.*, 2002). A transmissão vetorial tem sido responsável por 80% dos casos da tripanossomíase, estando mais concentrada em regiões de baixas condições sociais associadas à ação desordenada do homem sobre o meio ambiente (Aras *et al.*, 2003).

Outras formas de transmissão descritas na literatura são, a congênita, por transfusão sanguínea, através de transplante de órgãos ou ainda por ingestão de carnes, principalmente de caça, cruas ou mal cozidas, contaminadas pelo *T. cruzi*. O aleitamento materno também é citado como via de transmissão quando a mãe se apresenta na fase aguda da doença e, principalmente, se houver fissuras nos mamilos. E a via acidental em laboratório, ocorrendo com o pessoal que manipula o agente etiológico desta doença também é uma via de disseminação (Silva *et al.*, 2002). Segundo Aras *et al.* (2003), a transfusão sanguínea é responsável por 5 a 20% dos casos, enquanto que a via congênita corresponde em média a 1%.

2.2.7 Ciclo Biológico

As tripomastigotas circulantes são infectantes para os triatomíneos, que sugam o sangue direto dos capilares (1). No estômago do artrópode, o *T.*

cruzi evolui inicialmente para uma forma arredondada com flagelo (esferomastigota) e, posteriormente, em epimastigota. Multiplicando-se por divisão binária no intestino médio do vetor, o parasita migra para o intestino posterior onde se transforma em tripomastigota metacíclico (2), que é a forma infectante para o hospedeiro vertebrado (Veronesi e Focaccia, 2002). Os triatomíneos injetam saliva sob a pele do indivíduo que lhes fornece o alimento durante seu repasto sanguíneo, o que reduz a sensação de dor, porém tende a provocar prurido (3). O ato de coçar torna-se então um meio eficiente de contaminação, levando fezes contaminadas e urina eliminadas pelo inseto, durante o repasto, para o local da picada (Silva *et al.*, 2002).

Após a interiorização os parasitas são fagocitados, lisam as células e escapam para o citoplasma, aonde irão se replicar. Os flagelados transformam-se em amastigotas ovalados que, por sua vez, se multiplicam por divisão binária tornando-se novamente tripomastigotas, por ocasião da ruptura celular e liberação destes microrganismos no sangue (4). As formas tripomastigotas circulam no sangue dos vertebrados e podem infectar diversos tipos celulares, tais como macrófagos, fibras musculares esqueléticas, fibrocélulas cardíacas e células da glia (5). (Veronesi e Focaccia, 2002). Ao alimentar-se novamente em um novo hospedeiro, infectando-o, o triatomíneo fecha o ciclo dessa enfermidade (6) (Silva *et al.*, 2002), (figura 16).

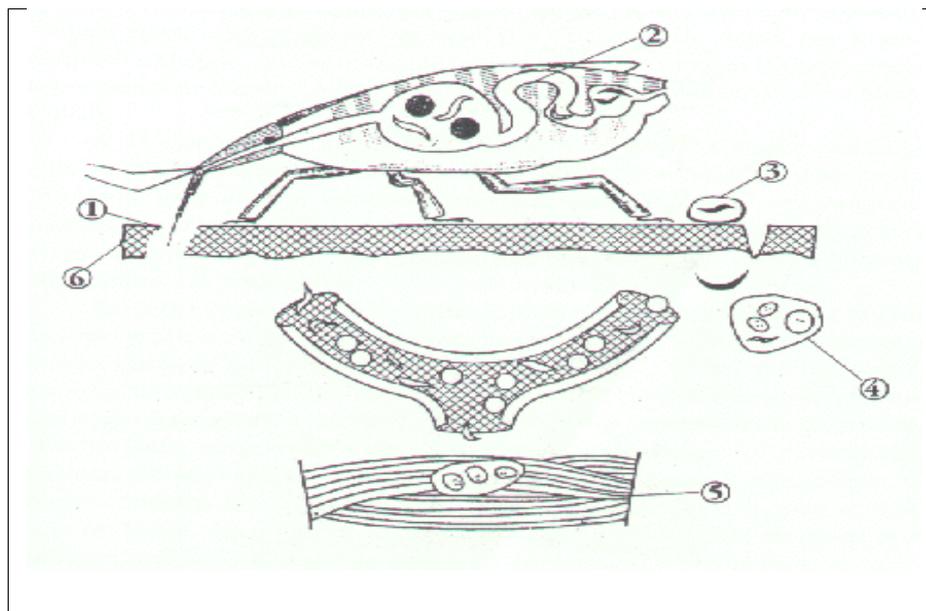


Figura 16: Ciclo biológico da doença de Chagas: 1- contaminação do triatomíneo através da picada no hospedeiro vertebrado; 2- ciclo

do *T. cruzi* no sistema digestivo do artrópode; 3- infecção do hospedeiro vertebrado através da picada do triatomíneo; 4- fagocitose e diferenciação do *T. cruzi* na circulação do hospedeiro; 5- infecção de células do sistema fagocítico e células musculares do hospedeiro; 6- novo repasto do triatomíneo, agora infectado, fecha o ciclo dessa enfermidade. (Fonte: Chagas Filho, 2002. Ilustração impressa em camisetas distribuídas pela P. Desing Co., Oregon, USA)

2.2.8 Sintomatologia

No tocante a tripanossomíase canina, já foram descritas manifestações agudas e crônicas dessa enfermidade. A moléstia aguda é facilmente observada em cães jovens, entre cinco e seis meses de idade. Os animais afetados desenvolvem infecção generalizada, com lesões extensas, de forma predominante no miocárdio e no sistema nervoso central. Caracteriza-se ainda por, anorexia, linfadenopatia generalizada, diarreia, miocardite e podendo ainda ocorrer morte súbita, decorrente da arritmia cardíaca grave. Em cães adultos, é mais difícil que ocorra a fase aguda da doença (Camacho, 2003; Ettinger e Feldman, 1997).

Já a moléstia crônica, ocorre oito a 36 meses após a infecção inicial, caracteriza-se por arritmias ventriculares e miocardiopatia dilatada (figura 17). Inicialmente, são observados sinais de insuficiência cardíaca do lado direito, com progressão para a insuficiência biventricular (Ettinger e Feldman, 1997).



Figura 17: Miocardiopatia dilatada chagásica em um

2.2.9 Diagnóstico

- Clínico

Em cães, os aspectos da patologia clínica da moléstia são inespecíficos e não ajudam no diagnóstico (Ettinger e Feldman, 1997). Contudo, pode fundamentar-se nos achados de insuficiência cardíaca congestiva, associados ao histórico sugestivo da proveniência de zonas endêmicas para a tripanossomíase e nos resultados dos exames laboratoriais (Camacho, 2003).

- Laboratorial

A **demonstração direta do parasita** pode ser realizada na fase aguda da doença, onde esta pode ser diagnosticada pela detecção de tripomastigotas no sangue, por exame direto do esfregaço sanguíneo corado pelo *Giemsa* ou pelo exame da gota espessa (Gonçalves da Costa, 1999).

Na **hematologia**, utiliza-se o sangue de humanos, reservatórios silvestres ou ainda de reservatórios domésticos quando deseja investigar a presença de *T. cruzi*. Semeando-os em meios de cultura pode-se evidenciar o aparecimento de formas epimastigotas em multiplicação após alguns dias (Gonçalves da Costa, 1999).

Na **inoculação em animais de laboratório**, inocula-se, intraperitonealmente, o sangue suspeito ou líquido cefalorraquidiano em camundongos no volume de 2mL, permitindo avaliar a presença de tripomastigotas no sangue após uma semana; várias observações são feitas a

seguir até dois meses, para considerar-se o resultado negativo ou não (Gonçalves da Costa, 1999).

O **xenodiagnóstico** (figura 18), por sua vez, consiste na pesquisa do parasita no sangue do paciente em quadro clínico sugestivo, através da demonstração do desenvolvimento do mesmo no tubo digestivo de vetor após este ter sido alimentado com o sangue do paciente. Empregam-se ninfas de barbeiros criadas em laboratórios e alimentadas com sangue de aves refratárias a infecção. A sensibilidade do método é de aproximadamente 40% (Camacho, 2003; Silva *et al.*, 2002).



Figura 18: Crianças sendo sugadas por barbeiros (seta), metodologia do xenodiagnóstico na época da descoberta da doença de Chagas. (Fonte: Acervo Casa da Cultura Carlos Chagas, 2002)

- Métodos Indiretos

Quanto aos **testes sorológicos**, a IFI (figura 19) é considerada como a prova de referência para a tripanossomíase. Esta detecta a presença de anticorpos IgG anti-*T. cruzi* e utiliza formas epimastigotas de *T. cruzi* cepa Y. Também são utilizados para o diagnóstico o ELISA e o teste de hemaglutinação (Camacho, 2003).

- Métodos Moleculares

A **Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)** consiste na reação em cadeia da enzima polimerase que permite ampliar frações de moléculas de DNA do parasita, que, por sua vez, lhe dão identidade (Silva *et al.*, 2002).

A utilização de duas técnicas dentre as técnicas sorológicas e moleculares citadas permite a execução de um diagnóstico confiável na maioria dos casos, assim como possibilita ao clínico confirmar a etiologia chagásica ou ausência da infecção (Veronesi e Focaccia, 2002).

2.2.10 Tratamento

O tratamento da infecção chagásica em cães ainda é difícil, pois a doença não permite uma cura definitiva. O tratamento muitas vezes é prolongado, mas oferece uma condição de vida razoável (Camacho, 2003).

O benzonidazol (nitroimidazólico), por exemplo, quando testado em cães produziu seqüelas neurológicas, como: apatia, hipertonia e hiperreflexia dos membros posteriores e do equilíbrio (Vieira, 1992). Nos Estados Unidos, outra droga usada foi o Nifurtimox®, mas seus efeitos colaterais também são graves (Ettinger e Feldman, 1997).

2.2.11 Profilaxia e Controle

O controle baseia-se principalmente em medidas referentes ao vetor, impedindo a sua proliferação. Além de medidas específicas como inquéritos sorológicos, entomológicos e campanhas de conscientização, as atividades de educação em saúde devem estar inseridas em todas as ações de controle (Ussui e Silva, 2002)

O cuidado e a atenção com o diagnóstico na fase aguda, tanto nos humanos como nos animais, e o trabalho de esclarecimento e conscientização das comunidades provenientes de áreas endêmicas são vitais para o controle e prevenção da doença (Souto Jr. e Ribeiro, 2002).

Contudo, até hoje, não se dispõe de uma vacina suficientemente eficaz e segura e também não se recomenda uma ação sistemática contra os reservatórios naturais (Veronesi e Focaccia, 2002).

3. JUSTIFICATIVA

Existem poucos estudos a respeito da prevalência de *T. cruzi* nos cães. A maioria destes utiliza o diagnóstico parasitológico através do xenodiagnóstico, tanto para cães infectados naturalmente nas áreas endêmicas bem como, para aqueles experimentalmente infectados. Sendo a leishmaniose e a tripanossomíase zoonoses de grande importância em saúde pública e principalmente pelo fato de ambas serem causadas por protozoários pertencentes à mesma família, é importante comparar os resultados da sorologia para verificar a ocorrência de reações cruzadas. Ademais, também são necessários estudos epidemiológicos objetivando determinar o impacto da leishmaniose e tripanossomíase canina no nosso meio.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Fazer a enquête sorológica da leishmaniose e da tripanossomíase caninas.

4.2 Objetivos específicos

- 4.2.1 Fazer um inquérito epidemiológico da leishmaniose e tripanossomíase caninas por meio de questionários;
- 4.2.2 Determinar a prevalência dessas enfermidades, através dos métodos sorológicos ELISA e IFI;
- 4.2.3 Estudar os fatores de risco associados a estas enfermidades;
- 4.2.4 Comparar os resultados obtidos pelo IFI e ELISA para ambas enfermidades.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Enfoque epidemiológico

A área de estudo foi um Município do sertão nordestino, o Município de Mossoró no Rio Grande do Norte (Figuras 20). Situado a 42 km do litoral, entre as cidades de Natal - RN e Fortaleza - CE (a 277km e 260km de distância, respectivamente), possui clima semi-árido, uma população de 213.841 habitantes (Censo 2000 - Fonte IBGE - Escritório Regional) distribuídos em 199.181 habitantes na área urbana e 14.760 habitantes na zona rural e uma economia baseada na agropecuária, no sal e no petróleo. No que se refere à leishmaniose visceral, no período de 2002-2003, segundo dados da Vigilância Sanitária do município, foram diagnosticados 481 casos caninos e 23 humanos, cuja prevalência anual no ano de 2002 foi 3,10% e em 2003 foi 3,06%.



Figura 19: Localização geográfica de Mossoró.
(Fonte: Prefeitura Municipal de Mossoró, 2004)

A abordagem junto às residências foi realizada com o apoio da Vigilância Sanitária do Município de Mossoró – RN, em residências de áreas rurais e urbanas escolhidas por conveniência vinculadas à presença de cães. A zona rural avaliada incluiu os Sítios Picada, Sítio Chafaris, Sítio Hipólito e Sítio Olho D'água Velho, ambos focos de maior ocorrência dessas enfermidades fora do perímetro urbano, segundo a Vigilância Sanitária do Município. Durante a visita, foi utilizado um questionário epidemiológico, conforme preconizado por Lauricella *et al.* (1989) e Wisnivesky-Colli *et al.* (1985), visando à obtenção do maior número de informações a respeito das condições de vida da população analisada.

Foram utilizados 198 cães, sendo 136 provenientes de 107 residências urbanas e 62 de 31 propriedades rurais. Os cães investigados foram catalogados em fichas, de acordo com os modelos utilizados por Freitas *et al.* (1952), Gurtler *et al.* (1993) e Uchôa *et al.* (2001), onde foram registrados dados, como: função exercida pelos cães nas residências (guarda, companhia ou caça); presença de criações peridomiciliares (caprinos, ovinos suínos, aves, bovinos e/ou eqüídeos); presença de contactantes (cães e/ou gatos criados em associação); e habitat (peridomicílio ou domicílio, ou seja, animais criados no quintal ou dentro das residências, respectivamente).

5.2 Coleta e processamento do espécime clínico

Os cães foram contidos e, após a antissepsia local com álcool iodado 10%, foram coletados 5mL de sangue por venopunção, utilizando-se o sistema *vacuntainer*. Após este procedimento, os tubos foram submetidos a uma inclinação de 45°, por duas horas, e a seguir foram centrifugados por 10 minutos a uma velocidade de 3.000rpm para favorecer a retração do coágulo. Posteriormente, os soros obtidos foram acondicionados em tubos *ependorff* identificados e submetidos a um congelamento de -20°C, até a realização dos testes sorológicos.

5.3 Testes Sorológicos

Os testes IFI e ELISA foram conduzidos em parceria com o Laboratório de Imunomodulação do Departamento de Protozoologia da

Fundação Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) no Rio de Janeiro, seguindo os critérios preconizados nesta Instituição.

5.3.1 Imunofluorescência Indireta

Para realização da IFI foi utilizado o kit IFI para diagnóstico da leishmaniose canina (BIO-MANGUINHOS/FIOCRUZ).

Para realização do teste, utilizaram-se as alíquotas que se encontravam congeladas à -20°C, as quais foram previamente colocadas em temperatura ambiente para descongelar dentro de isopor com gelo para manter a temperatura baixa. Assim como o PBS pH 7,2, armazenado a 4°C e cuja fórmula é: 76 g NaCl + 2,75 g NaH₂PO₄ (monobásico) + 11,32 g NaH₂PO₄ (dibásico) + 1000 mL H₂O destilada qsq e as lâminas para imunofluorescência contendo o antígeno cepas de *T. cruzi* e *L. chagasi*.

Logo em seguida, e após a identificação das lâminas e da placa de 96 poços (fundo em U), com a pipeta multicanal colocou-se 45 µl de PBS na primeira linha da placa e 25 µl nas linhas seguintes, sendo oito linhas, cada linha correspondendo a uma diluição (1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320, 1/640 e 1/1280) e cada coluna correspondendo a uma amostra de soro incluindo os controles positivos e negativos.

Utilizou-se então 5 µl de cada amostra previamente homogeneizada em agitador e as colocou na primeira linha e coluna correspondentes na placa, incluindo sempre os controles. Em seguida fez-se a diluição seriada utilizando a pipeta multicanal pegando 25 µl da primeira linha, passando para a linha seguinte e assim sucessivamente.

As lâminas contendo o antígeno foram postas em câmara úmida nas quais foi acrescentado em cada orifício 10 µl de cada diluição, sempre em seqüência, atentando que era uma lâmina para cada soro e que na primeira lâmina ainda foram usados os dois orifícios centrais para colocar 10 µl do controle negativo e 10 µl do positivo utilizando a diluição 1/160. Tampou-se a câmara deixando-a em repouso por 30 minutos para que houvesse reação antígeno-anticorpo.

Passado os 30 minutos, colocou-se as lâminas em cubetas contendo PBS e deixou-as lavando por 5 minutos em agitador de placas, repetiu-se esse procedimento mais duas vezes, depois lavou-se as mesmas rapidamente H₂O destilada para retirar possíveis cristais (resíduos do PBS), colocando-as em seguida, em suporte para lâmina e levou-as para estufa a 37 °C para secar por 30 minutos.

Enquanto isso foi preparado o conjugado (anti-IgG canina conjugada com isotiocianato de fluoresceína), deixado em gelo no isopor à temperatura ambiente. Já secas, as lâminas foram novamente colocadas na câmara úmida e em cada orifício foi colocado 10 µl do conjugado previamente homogeneizado em agitador, tampou-se a câmara novamente, cobriu-a com um pano escuro para que não houvesse absorção da luz e gastou a fluorescência e a deixou em repouso por mais 30 minutos.

Após esse período procedeu-se novamente com a lavagem com PBS e H₂O destilada citada anteriormente, assim como com a secagem na estufa e novamente colocou-as em câmara úmida para evitar ressecamento das lâminas. Para montagem das lâminas, acrescentou-se duas gotas de glicerol sobre as mesmas para reduzir problemas com refração durante a leitura ao microscópio e cobriu-as com a lamínula.

A leitura das lâminas foi realizada em microscópio Zeiss Axioskop, equipado com lâmpada HBO 50 para imunofluorescência, com objetiva de 40x/0,75 e oculares de 10x/20, onde foi constatado como positiva as amostras que apresentaram fluorescência em diluição partir de 1/40.

5.3.2 Imunoadsorção Enzimática

Quanto ao ELISA, foi utilizado o kit ELISA para diagnóstico da leishmaniose canina (BIO-MANGUINHOS/FIOCRUZ).

Este ensaio consiste na reação de soros caninos com antígenos recombinantes de *T. cruzi* e *L. chagasi*, obtidos a partir de cultura "in vitro", que foram previamente adsorvidos nos poços das microplacas/strips (fase sólida). A seguir homogeneizou-se os controles e as amostras e distribuiu-se inicialmente 50 µl dos soros controles do teste, onde o controle positivo foi colocado na primeira, segunda e terceira colunas da primeira linha; o controle negativo na primeira linha e quarta coluna; e o controle do conjugado, composto apenas de diluente de conjugado, na primeira linha e quinta coluna. Nos demais orifícios, distribuiu-se 50 µl das amostras a serem analisadas nos respectivos orifícios que, possuindo anticorpos específicos, se fixaram aos antígenos. Os controles positivos, negativos e as amostras bem como os demais reagentes que se encontravam em refrigeração a 4°C, só foram utilizados após atingirem temperatura ambiente.

Após a adição das alíquotas, selou-se as microplacas com folha adesiva e incubou-as a 37°C por 30 minutos, conseguindo descolou-se cuidadosamente a folha adesiva, aspirou-se o conteúdo e lavou-se as microplacas seis vezes com tampão de lavagem (200 µL/orifício) com intervalo de 30-60 segundos entre cada lavagem.

Na etapa seguinte, diluiu-se o conjugado, marcado com a enzima peroxidase, no diluente do conjugado, homogeneizando-os e distribuiu-se 50 µl desta diluição em cada orifício das microplacas, para se ligar com a reação antígeno-anticorpo caso estivessem presentes. Novamente prosseguiu-se com o protocolo de selagem, encubagem e lavagem descritos anteriormente.

Para evidenciação da reação preparou-se o substrato em frasco escuro utilizando-se uma substância cromógena (TMB), que pela ação da peroxidase com o peróxido de hidrogênio forma um composto de coloração azul turquesa, distribuiu-se então 100 µl deste substrato rapidamente em todos os orifícios. Encubou-se novamente, as microplacas em temperatura ambiente e ao abrigo da luz por 30 minutos. Para bloquear a reação adicionou-se 50 µl de H₂SO₄ 2M em todos os orifícios.

A leitura foi realizada em espectrofotômetro para microplacas, equipado com filtro de 450 nm, e após alguns minutos para estabilização do feixe de luz, zerou-se o aparelho no ar e iniciou-se a leitura. Se a reação passou a apresentar uma coloração amarela após a adição do ácido, foi positivo (reagente). Nas cavidades que não houve anticorpos específicos, não houve desenvolvimento de cor o que caracterizou uma reação negativa (não reagente).

O cálculo do *cut-off* indica a partir de que densidade deve-se considerar a positividade da reação, além da alteração da coloração, e é feito pela média da densidade ótica do controle negativo multiplicado pelo fator de correção 2,5. Assim, considerou-se verdadeiramente positivas amostras com densidades partir do resultado do *cut-off*, porém resultados entre os valores negativos e o valor do *cut-off* não devem ser desconsiderados e sim comparados aos resultados da IFI respectiva para cada amostra a fim de garantir sua idoneidade, devendo-se repetir o teste em caso de dúvida.

5.4 Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados pelo Teste Exato de Fisher, tendo sido considerado significativos àqueles resultados com $p \leq 0,05$ (Fisher, 1935).

6. ARTIGOS SUBMETIDOS

6.1 Artigo 1

AMÓRA, S. S. A., ALVES, N. D., SANTOS, M. J. P., GONÇALVES DA COSTA, S. C., CALABRESE, K. S., MONTEIRO, A. J., ROCHA, M. F. G. Aspectos epidemiológicos leishmaniose visceral canina no Município de Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.**

6.2 Artigo 2

AMÓRA, S. S. A., ROCHA, M. F. G., SANTOS, M. J. P., GONÇALVES DA COSTA, S. C., CALABRESE, K. S., MONTEIRO, A. J., ALVES, N. D. Soroepidemiologia da Tripanossomíase canina em área endêmica no Município de Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil. **Revista de Saúde Pública.**

Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical

Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral canina no Município de Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil.

Epidemiological aspects canine visceral leishmaniasis in Mossoró, Municipality of Rio Grande do Norte, Brazil

Sthenia Santos Albano Amóra^{1*}, Nilza Dutra Alves², Maria José Paes Santos³, Sylvio Celso Gonçalves da Costa⁴, Kátia da Silva Calabrese⁴, André Jalles Monteiro⁵, Marcos Fábio Gadelha Rocha¹

RESUMO

Este estudo objetivou fazer uma análise epidemiológica e laboratorial da leishmaniose visceral canina, por meio de questionários e métodos sorológicos, respectivamente, em áreas rurais e urbanas do Município de Mossoró, Rio Grande do Norte. Foram analisados 198 cães, dos quais 62 foram recrutados de propriedades rurais e 136 de residências urbanas. O diagnóstico foi feito através dos testes de Imunofluorescência Indireta e Imunoabsorção Enzimática. Dos cães analisados, 45% foram reagentes na área rural e 34% na área urbana. Quando se comparou à procedência

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

² Departamento de Medicina Veterinária, Escola Superior de Agricultura de Mossoró, Mossoró, RN, Brasil.

³ Departamento de Medicina Veterinária, Universidade de Cuiabá, Cuiabá, MT, Brasil.

⁴ Laboratório de Imunomodulação, Departamento de Protozoologia, Fundação Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

⁵ Departamento de Estatística e Matemática Aplicada, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

**Endereço p/ correspondência:* Sthenia Santos Albano Amóra. Pça Felipe Guerra, 12, lj 63, Centro, 59600-660, Mossoró, RN, Brasil. *Tel:* (0xx84) 321-4848 / 9408-6282.

E-mail: stheniasantos@yahoo.com.br (S.S.A. Amóra).

observou-se que, independente da origem, os cães peridomiciliados que tinham outros carnívoros domésticos como contactantes foram mais prevalentes. A função exercida por esses animais, assim como a presença de criações peridomiciliares não influenciou a positividade dos cães. Os resultados mostraram a grande importância em se fazer um inquérito epidemiológico e diagnóstico preciso da leishmaniose visceral, pois os dados obtidos poderão contribuir para o planejamento de estratégias de controle do vetor e reservatórios domésticos desta zoonose.

Palavras-chave: leishmaniose visceral, veterinária, sorodiagnóstico e epidemiologia

ABSTRACT

The aim of this study was to undertake an epidemiological and laboratorial analysis of canine visceral leishmaniasis through questioning and serological methods in rural and urban areas in municipality Mossoró of Rio Grande do Norte. From the 198 dogs analysed, 62 were from rural properties and 136 from urban residences. Diagnosis was assessed through indirect immunofluorescence and enzyme-linked immunosorbent assay. Forty five per cent (45%) of the rural dogs analyzed were serum reactive and 34% of the urban dogs were serum positive. It was seen, that, independent of the origin of the dogs, the ones kept outdoors and having contact with other domestic carnivores were more susceptible. The function of these dogs, as well as the close proximity of other animals kept in the same area, did not have any influence in their positivity. Results have shown the importance of making an epidemiological inquiry and precise diagnoses of visceral leishmaniasis as the data obtained may contribute to the planning of the strategies of vector and domestic reservoir control.

Keywords: visceral leishmaniasis, veterinary, serologic tests and epidemiology

INTRODUÇÃO

Os protozoários flagelados do gênero *Leishmania* são causadores de enfermidades zoonóticas que acometem o sistema fagocítico mononuclear de humanos e alguns mamíferos¹⁴. No tocante a leishmaniose visceral, o

agente identificado endemicamente é a *Leishmania chagasi*, sendo *Lutzomyia longipalpis* o principal vetor incriminado na transmissão da doença¹⁹.

A leishmaniose pode se apresentar de forma muito diversificada, já que a relação dos parasitas com seus hospedeiros está na dependência, dentre outros fatores, de aspectos genéticos, nutricionais e epidemiológicos¹². Como exemplo de manifestações clínicas pode ser citada a forma cutânea, mucocutânea e visceral. A leishmaniose visceral é considerada uma enfermidade séria e, muitas vezes, fatal especialmente em áreas endêmicas⁹. Na epidemiologia desta zoonose, o cão atua como principal reservatório do protozoário *L. chagasi* em áreas urbanas¹⁶. Ademais, sua prevalência na população canina é maior do que na humana, uma vez que os casos humanos normalmente são precedidos por casos caninos¹⁴. Podendo-se constatar que, esse reservatório doméstico tem um papel fundamental na expansão da doença em áreas endêmicas¹⁸.

As leishmanioses, em especial a visceral, compreendem uma das sete endemias mundiais de prioridade absoluta da Organização Mundial de Saúde (OMS), devido ao seu caráter endêmico em várias regiões do mundo. Esta doença afeta de um a dois milhões de pessoas por ano, havendo aproximadamente 500.000 casos novos de leishmaniose a cada ano. No Brasil os focos de maior endemicidade são registrados nos Estados da Bahia, Ceará, Piauí, Rio Grande do Norte e na Cidade de São Luis do Maranhão¹⁹.

O conhecimento da história natural da leishmaniose visceral canina, através de inquérito epidemiológico, serve de base para o programa de controle da doença. Contudo, para um bom planejamento deve ser estudadas informações quantitativas básicas sobre a prevalência e a incidência desta doença⁶.

Os exames mais utilizados para o diagnóstico dessa enfermidade são os sorológicos, sendo a Reação da Imunofluorescência Indireta (IFI) considerada padrão pela OMS. Seu emprego é universal, e do ponto de vista epidemiológico, títulos iguais ou maiores que 1/40 são considerados positivos. Outra técnica utilizada é o teste imunoenzimático (ELISA), que apresenta alta sensibilidade, porém, sua especificidade é dependente do antígeno utilizado¹². O ELISA tem sido amplamente empregado para pesquisa de anticorpos contra *Leishmania* em animais e no homem¹³.

Com base nessas informações, este estudo teve por objetivo fazer uma análise epidemiológica da leishmaniose visceral canina, por meio de questionários e métodos sorológicos (ELISA e IFI), em áreas urbanas e rurais no Município de Mossoró, Rio Grande do Norte.

MATERIAL E MÉTODOS

Enfoque epidemiológico. A área de estudo foi um Município do sertão nordestino, o Município de Mossoró no Rio Grande do Norte. Situado a

42 km do litoral, entre as cidades de Natal - RN e Fortaleza - CE (a 277km e 260km de distância, respectivamente), possui clima semi-árido, uma população de 213.841 habitantes distribuídos em 199.181 habitantes na área urbana e 14.760 habitantes na zona rural e uma economia baseada na agropecuária, no sal e no petróleo. No período de 2002-2003, segundo dados da Vigilância Sanitária do município, foram diagnosticados 481 casos de leishmaniose visceral canina e 23 leishmaniose visceral humana, cuja prevalência anual no ano de 2002 foi 3,10% e em 2003 foi 3,06%.

A abordagem junto às residências foi realizada com o apoio da Vigilância Sanitária do Município de Mossoró – RN, em residências de áreas rurais e urbanas escolhidas por conveniência vinculadas à presença de cães. A zona rural avaliada incluiu os Sítios Picada, Sítio Chafaris, Sítio Hipólito e Sítio Olho D'água Velho, ambos focos de maior ocorrência dessa enfermidade fora do perímetro urbano, segundo a Vigilância Sanitária do Município. Durante a visita, foi utilizado um questionário epidemiológico, conforme preconizado por Lauricella *et al.* (1989) e Wisnivesky-Colli *et al.* (1985), visando à obtenção do maior número de informações a respeito das condições de vida da população analisada.

Foram utilizados 198 cães, sendo 136 provenientes de 107 residências urbanas e 62 de 31 propriedades rurais. Os cães investigados foram catalogados em fichas, de acordo com os modelos utilizados por Freitas *et al.* (1952), Gurtler *et al.* (1993) e Uchôa *et al.* (2001), onde foram registrados dados, como: função exercida pelos cães nas residências (guarda, companhia ou caça); presença de criações peridomiciliares (caprinos, ovinos suínos, aves, bovinos e/ou eqüídeos); presença de contactantes (cães e/ou gatos criados em associação); e habitat (peridomicílio ou domicílio, ou seja, animais criados no quintal ou dentro das residências, respectivamente).

Coleta e processamento do espécime clínico. Os cães foram contidos e, após a antisepsia local com álcool iodado 10%, foram coletados 5mL de sangue por venopunção, utilizando-se o sistema *vacuntainer*. Após este procedimento, os tubos foram submetidos a uma inclinação de 45°, por duas horas, e a seguir foram centrifugados por 10 minutos a uma velocidade de 3.000 rpm para favorecer a retração do coágulo. Posteriormente, os soros obtidos foram acondicionados em tubos *ependorff* identificados e submetidos a um congelamento de -20°C, até a realização dos testes sorológicos.

Testes Sorológicos. Os testes IFI e ELISA foram conduzidos em parceria com o Laboratório de Imunomodulação do Departamento de Protozoologia da Fundação Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) no Rio de Janeiro, seguindo os critérios preconizados nesta Instituição.

Para realização da IFI foi utilizado o kit IFI para diagnóstico da leishmaniose canina (BIO-MANGUINHOS/FIOCRUZ). Este teste tem como objetivo a detecção de anticorpos contra *L. chagasi* em soros caninos. A reação entre o antígeno fixado e o anticorpo presente nas amostras foi visualizada em lâminas de microscopia após a adição de antiimunoglobulina canina conjugada com isotiocianato de fluoresceína. A leitura, por sua vez, foi realizada com o auxílio de microscópio, que utiliza incidência de luz azul e ultravioleta, sendo considerados reagentes os soros que apresentavam fluorescência, tomando como referência os soros controle positivo e negativo que foram incluídos em cada lâmina.

Quanto ao ELISA, foi utilizado o kit ELISA para diagnóstico da leishmaniose canina (BIO-MANGUINHOS/FIOCRUZ), que consiste na reação de soros caninos com antígenos solúveis e purificados de *L. chagasi*, obtidos a partir de cultura *in vitro*, que foram previamente adsorvidos nos poços das placas. Após a adição dos soros diluídos em diluente de amostra/conjugado na concentração de 1/100, evidenciou-se a reação pela adição do cromógeno tetrametilbenzidina e após 30 minutos foi adicionado o ácido sulfúrico que interrompeu a reação. Em seguida, a leitura das placas foi realizada em espectrofotômetro à 490nm.

Análise estatística. Os dados obtidos foram analisados pelo Teste Exato de Fisher⁵, tendo sido considerado significativos àqueles resultados com $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

Partindo da amostra populacional da área rural foram identificados 28 cães (45%) prevalentes para leishmaniose visceral. Na área urbana foram encontrados 47 cães (34%) prevalentes. Contudo, a análise estatística evidenciou que não existe diferença significativa entre os percentuais de prevalentes no meio urbano e rural ($p = 0,16$) (tabela 1).

No tocante ao habitat dos cães, evidenciou-se que os animais que mantinham maior contato com o ar livre, vegetação, outros animais e inclusive com ecótipos dos vetores foram mais prevalentes, tanto na área rural com 27 (44%) dos animais soropositivos, quanto na área urbana correspondendo a 45 cães (36%). Entretanto, não foi observada diferença significativa quando se comparou as duas procedências ($p = 0,34$) (Tabela 2).

Quanto à análise comparativa da influência dos carnívoros domésticos contactantes, correspondiam aos cães e/ou gatos criados junto com os animais avaliados, sobre a prevalência dos cães analisados, foi observado que no ambiente rural essa influência foi significativamente maior ($p = 0,05$) quando comparada aos achados da área urbana na mesma situação, onde foi observada uma percentagem de 49% de cães prevalentes na área rural e 32% na área urbana (Tabela 3).

Em função do sexo, entre os machos, tanto na área rural quanto na urbana não foi observada diferença significativa ($p = 1,00$). Porém, entre as fêmeas o percentual de prevalentes é maior nos cães do meio rural ($p = 0,03$) (tabela 4).

Na tabela 5, encontra-se demonstrado o resultado da sorologia em relação à função exercida pelos cães. Quando se comparou a positividade dos cães de guarda entre as procedências, observou-se que não houve diferença significativa entre estes, pois observaram-se 50% e 43% de soropositividade para as áreas rural e urbana respectivamente.

Considerando a influência da presença de criações peridomiciliares que, por sua vez correspondiam a suínos, caprinos, bovinos, eqüídeos e/ou aves que mantinham contato com os cães avaliados, foi observado um maior percentual de cães prevalentes na área rural (47%) quando comparado à área urbana (37%) em relação aos cães que mantinham contato com essas criações, embora essa diferença não tenha sido estatisticamente significativa ($p = 0,32$), conforme demonstrado na tabela 6.

DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram que não existe diferença de prevalência para leishmaniose visceral entre os cães da área urbana e rural,

embora tenha havido um maior percentual de cães prevalentes entre os animais avaliados no meio rural (45%). Baseado nas observações de Alencar (1961)¹, esses achados, que embora mantenham algumas características rurais mostram que essa zoonose vem se urbanizando, equilibrando dessa forma a prevalência nas duas procedências, podem ser explicados pelas transformações ambientais provocadas pelo intenso processo migratório, por pressões econômicas ou sociais, a pauperização conseqüente de distorções na distribuição de renda, o processo de urbanização crescente, o esvaziamento rural e as condições climáticas como secas periódicas, que em conjunto agem como coadjuvantes na expansão das áreas endêmicas dessa zoonose e no aparecimento de novos focos. De forma semelhante, corroborando com os achados de Moura *et al.*, (1999)¹⁵ em Cuiabá - MT, os bairros urbanos analisados por eles e cuja soropositividade dos cães foi significativa, em geral, apresentavam caráter rural o que viabilizaria a presença do vetor junto às residências¹⁵.

Os cães peridomiciliados mostraram uma prevalência mais elevada à infecção que os domiciliados. Esses dados estão de acordo com os encontrados por Uchôa *et al.*, (2001)¹⁷, que afirmaram que uma ocupação desordenada pelo homem, principalmente próximo a encostas e/ou matas, acarretando desequilíbrios ambientais, favorecem a instalação do ciclo extraflorestal da doença beneficiando o caráter peridomiciliar da enfermidade¹⁷.

Moura *et al.*, (1999)¹⁵ e Uchôa *et al.*, (2001)¹⁷, reafirmam ainda o caráter peridomiciliar e as conseqüências do desequilíbrio ecológico sobre a incidência da leishmaniose visceral, que antes era apenas rural e que hoje vem se urbanizando intensamente. Contudo, os dados da presente investigação mostraram que apesar da urbanização da leishmaniose, em

virtude da invasão do homem aos focos naturais alterando o equilíbrio ecológico, essa enfermidade ainda conserva algumas características rurais. Corroborando nossos dados, Barbosa *et al.*, (1999)³ constataram, através do ELISA e IFI, uma positividade de 13% em Paraty - RJ, com maior concentração em Graúna, região com características tipicamente rurais³.

Quando se comparou à procedência rural com a urbana pôde-se observar também que os cães que tinha outros cães e/ou gatos como contactantes mostraram-se mais prevalentes, embora a presença desses contactantes só tenha influenciado de forma estatisticamente significativa a soropositividade dos cães no ambiente rural ($p = 0,05$).

Feitosa *et al.*, (2000)⁴ relataram que, até a realização dos seus estudos, não foi evidenciada predisposição sexual, racial ou etária, relacionada com a infecção animal pela *L. chagasi*. Contudo, o presente trabalho demonstrou que as cadelas provenientes do meio rural foram mais prevalentes ($p = 0,03$). Esses resultados enfatizam as variações que as características dessa infecção vem sofrendo ao longo dos anos. Pois, na década de 50, nas pesquisas realizadas por Alencar e Cunha (1963)² no Estado do Ceará, observou-se uma tendência crescente da infecção leishmaniótica do cão à proporção que a idade avançava e constatou-se também uma pequena preferência da leishmaniose pelo sexo masculino.

No tocante aos testes preconizados neste estudo, foram seguidas as recomendações da OMS que considera a IFI como teste padrão, com emprego universal, onde epidemiologicamente títulos iguais ou superiores a 1/40 devem ser considerados positivos¹². As reações cruzadas podem ocorrer e com maior frequência em títulos iguais ou inferiores a 1/40^{10,16}. No presente estudo apenas um animal apresentou soro-reação para IFI em titulação abaixo de 1/40. Segundo Marcondes *et al.*, (2003)¹¹, a sororeação em titulações abaixo de 1/40 para *Leishmania* encontrada pode estar relacionada com possíveis reações cruzadas com outras infecções como a doença de Chagas¹¹. Esse

método só deve ser utilizado para confirmação dos casos suspeitos de leishmaniose visceral canina em regiões endêmicas¹⁴. Portanto, a utilização de duas técnicas na busca de um único diagnóstico em um mesmo inquérito é útil para uma triagem de casos ou em inquéritos epidemiológicos, permitindo a execução de uma sorologia confiável^{15,19}, como preconiza o Ministério da Saúde.

Baseados nesses resultados, foi possível fazer uma análise do perfil da leishmaniose, a partir dos dados epidemiológicos do cão. Onde pôde-se observar que cães de guarda peridomiciliados, criados com outros carnívoros domésticos ou em contato com criações peridomiciliares foram mais prevalentes. Por fim, o presente estudo mostrou a importância de se fazer um diagnóstico preciso e inquérito epidemiológico a cerca dessa zoonose, onde estas informações poderão contribuir para o planejamento de estratégias de controle do vetor e reservatórios domésticos, tendo sido o cão implicado como principal reservatório domiciliar em virtude de seu íntimo contato com os seres humanos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à bióloga Tânia Zaverucha do Valle do Laboratório de Imunomodulação do Departamento de Protozoologia da FIOCRUZ – RJ e à médica veterinária Gláucia Maria de Oliveira Barbosa pela fundamental participação no desenvolvimento do trabalho laboratorial; e à Jaqueline Bianque de Oliveira do Departamento de Biologia da UFRPE-PE pelo apoio na realização deste estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALENCAR, JE. Profilaxia do leishmaniose visceral no Ceará, Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. 3(4): 175-180, 1961.
2. ALENCAR, JE, CUNHA, RV. Inquéritos sobre calazar canino no Ceará – Novos resultados. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**. 36(1): 391-404, 1963.

3. BARBOSA GMS, MARZOCHI MCA, MASSARD CL, LIMA GPS, CONFORT EM. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose tegumentar americana em cães, no Município de Paraty, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, 15 (3): 641-646, 1999.
4. FEITOSA, MM, IKEDA, FA, LUVIZOTTO, MCR, PERRI, SHV. Aspectos clínicos de cães com leishmaniose no Município de Araçatuba – São Paulo (Brasil). **Clínica Médica** 28: 36-44, 2000.
5. FISHER, RA. The logic of inductive inference. **Journal of the Royal Statistical Society**, 98: 34-54, 1935.
6. FRANÇA-SILVA JC, COSTA RT, SIQUEIRA AM, MACHADO-COELHO GLL, COSTA CA, MAYRNK W, VIEIRA E.P, COSTA JS, GENARO O, NASCIMENTO E. Epidemiology of canine visceral leishmaniasis in the endemic área of Monte Claros Municipality, Minas Gerais State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, 111: 161-173, 2003.
7. FREITAS JLP, ROCHA UF, VASQUEZ JAZ. Inquérito preliminar sobre a infecção pelo *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) entre cães e gatos domésticos no município de Campo Florido (Triângulo Mineiro), Minas Gerais, Brasil. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária**, 4 (4): 545-551, 1952.
8. GURTLER RE, CECERE MC, PETERSEN RM. Chaga's disease in a northwest Argentina: association between *Trypanosoma cruzi* parasitaemia in dogs and cats and infection rates in domestic *Triatoma infestans*. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, 87 (1): 12-15. 1993.
9. IKONOMOPOULOS J, KOKOTAS S, GAZOUL M, ZAVRAS A, STOITSIOU M, GORGOULIS VG. Molecular diagnosis of leishmaniasis in dogs. Comparative application of traditional diagnostic methods and

- the proposed assay on clinical samples. **Veterinary Parasitology**, 113: 99-113, 2003.
10. LAURICELLA MA, SINAGRA AJ, PAULONE L, RIARTE AR, SEGURA EL. Natural *Trypanosoma cruzi* infection in dogs of endemic areas of the Argentine Republic. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, 31 (2): 63-70, 1989.
 11. MARCONDES CB, PIRMEZ C, SILVA ES, LAURENTINO-SILVA V, STEINDEL M, SANTOS AJ, SMANIOTTO H, SILVA CFB, SCHUCK NETO VF, DONETTO A. Levantamento de leishmaniose visceral em cães de Santa Maria e municípios próximos, Estado do Rio Grande do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 36(4): 499-501, 2003.
 12. MICHALICK MSM. Leishmaniose visceral canina: Diagnóstico. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, 40(sup): 144-145, 2003.
 13. MOHAMMED EAER, WRIGHT EP, KAGER PA, LAARMAN JJ, PONDMAN KW. ELISA using intact promastigotes for immunodiagnosis of kala-azar. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, 79: 344-350, 1985.
 14. MOREIRA MAB, LUVIZOTTO MCR, NUNES CM, SILVA TCC, LAURENTI MD, CORBETT CEP. Aplicação da técnica de imunofluorescência direta para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina em aspirado de linfonodo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, 39(2), 2002.
 15. MOURA ST, FERNANDES CGN, PANDOLPHO VC, RODRIGUES E SILVA R. Diagnóstico de leishmaniose canina na área urbana do Município de Cuiabá, Estado de Mato Grosso, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, 36 (2), 1999.

16. SAVANI ESMM, SCHIMONSKY B, CAMARGO MCGO, D'AURIA SRN. Vigilância da leishmaniose visceral americana em cães de área não endêmica, São Paulo. **Revista de Saúde Pública.** 37 (2): 260-262, 2003.
17. UCHÔA CMA, SERRA CMB, DUARTE R, MAGALHÃES CM, SILVA RM, THEOPHILO F, FIGLIUOLO LP, HORTA FT, MADEIRA MF. Aspectos sorológicos e epidemiológicos da leishmaniose tegumentar americana em Maricá, Rio de Janeiro, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.** 34 (6): 563-568, 2001.
18. VASCONCELOS, IAB, VASCONCELOS, AW, MOMEM, H, GRIMALD Jr., G, ALENCAR, JE. Epidemiological studies on american leishmaniasis in Ceará State, Brazil – Molecular characterization of the *Leishmania* isolates. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology.** 82(6): 547-554, 1988.
19. VERONESI R e FOCACCIA R. **Tratado de Infectologia.** 2ª ed. Atheneu, São Paulo, 2002.
20. WISNIVESKY-COLLI C, GURTLER RE, SOLARZ ND. Epidemiological role of humans, dogs and cats in the transmission of *Trypanosoma cruzi* in a central area of Argentina. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo,** 27 (6): 346-352, 1985.

Tabela 1: Soroprevalência de cães para *Leishmania chagasi* em área urbana e rural de Mossoró-RN, através dos testes IFI e ELISA.

Procedência	Negativo		Positivo		Total
	prevalência	%	prevalência	%	
Rural	34	54,84	28	45,16	62
Urbano	89	65,44	47	34,56	136
Total	123	62,12	75	37,88	198

Não houve diferença significativa entre os percentuais de positivos nos meios urbano e rural ($p = 0,16$)⁵.

Tabela 2: Soroprevalência de cães da área urbana e rural de Mossoró-RN para *Leishmania chagasi* em relação ao habitat dos mesmos, através dos testes IFI e ELISA.

Procedência	Resultado	Domicílio	Peridomicílio*	Total
Rural	negativo	--	34	34
	positivo	1	27	28
	total	1	61	62
Urbano	negativo	9	80	89
	positivo	2	45	47
	total	11	125	136

Entre os cães no habitat peridomicílio, os percentuais de positivos, dos meios urbano e rural, não apresentam diferença significativa ($p = 0,34$)⁵.

* Corresponde aos cães criados por seus donos no quintal das residências.

Tabela 3: Soroprevalência de cães da área urbana e rural de Mossoró-RN para *Leishmania chagasi* em relação aos carnívoros domésticos contactantes, através dos testes IFI e ELISA.

Procedência	Resultado	Ausência de contactantes*	Presença de contactantes	Total
Rural	negativo	6	28	34
	positivo	1	27 ^a	28
	Total	7	55	62
Urbano	negativo	20	69	89
	positivo	14	33	47

total 34 102 136

^a Entre os cães com a presença de contactantes o percentual de positivos é maior nos cães do meio rural ($p = 0,05$)⁵.

*Corresponde a cães e/ou gatos que mantinham contato com os animais avaliados.

Tabela 4: Soroprevalência de cães da área urbana e rural de Mossoró-RN para *Leishmania chagasi* em relação ao sexo dos mesmos, através dos testes IFI e ELISA.

Procedência	Resultado	Fêmea	Macho	Total
Rural	negativo	8	26	34
	positivo	12 ^a	16	28
	Total	20	42	62
Urbano	negativo	45	44	89
	positivo	20	27	47
	Total	65	71	136

Entre os machos os percentuais de positivos, dos meios urbano e rural, não apresentam diferença significativa ($p = 1,00$). ^aPorém, entre as fêmeas o percentual de positivos é maior nos cães do meio rural ($p = 0,03$)⁵.

Tabela 5: Soroprevalência de cães da área urbana e rural de Mossoró-RN para *Leishmania chagasi* em relação à função exercida por eles, através dos testes IFI e ELISA.

Procedência	Resultado	Caça	Companhia	Guarda	Total
Rural	negativo	6	3	25	34
	positivo	1	2	25	28
	total	7	5	50	62
Urbano	negativo	3	34	52	89
	positivo	1	7	39	47
	total	4	41	91	136

Não houve diferença significativa entre os percentuais de positivos nas diferentes funções exercidas pelos cães do meio rural e urbano ($p = 0,48$)⁵.

Tabela 6: Soroprevalência de cães da área urbana e rural de Mossoró-RN para *L. chagasi* em relação às criações peridomiciliares, através dos testes IFI e ELISA.

Procedência	Resultado	Ausência de criações*	Presença de criações	Total
Rural	negativo	6	28	34
	positivo	3	25	28
	total	9	53	62
Urbano	negativo	58	31	89
	positivo	29	18	47
	total	87	49	136

Não houve diferença significativa entre os percentuais de positivos quanto à presença de criações peridomiciliares no meio rural e urbano ($p = 0,32$)⁵.

*Corresponde a suínos, bovinos, caprinos, ovinos, aves e eqüídeos que mantinham contato com os cães avaliados.

Revista de Saúde Pública

Soroepidemiologia da Tripanossomíase canina em área endêmica no Município de Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil

Seroepidemiology of canine tripanossomíase in endemic area in the Municipality of Mossoró, Rio Grande do Norte, Brazil

Sthenia Santos Albano Amóra^{1*}, Marcos Fábio Gadelha Rocha¹, Maria José Paes Santos², Sylvio Celso Gonçalves da Costa³, Kátia da Silva Calabrese³, André Jalles Monteiro⁴, Nilza Dutra Alves⁵

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Estadual do Ceará. Av. Paranjana, 1700, Itaperi, 60740-000, Fortaleza, CE, Brasil.

² Departamento de Medicina Veterinária, Universidade de Cuiabá. Av. Arthur Bernardes, S/N, Ipase, 78125-100, Várzea Grande, MT, Brasil.

³ Laboratório de Imunomodulação, Departamento de Protozoologia, Fundação Instituto Oswaldo Cruz. Pavilhão Carlos Chagas, 3º andar, Av. Brasil, 4365, Manguinhos, 21045-900, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

⁴ Departamento de Estatística e Matemática Aplicada da Universidade Federal do Ceará. *Campus* do Pici, BI 910, 60455-760, Fortaleza, CE, Brasil.

⁵ Departamento de Medicina Veterinária, Escola Superior de Agricultura de Mossoró. BR 110, Km 47, Costa e Silva, 59600-925, Mossoró, RN, Brasil.

Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Ceará e Departamento de Protozoologia da Fundação e Instituto Oswaldo Cruz

Resumo

A tripanossomíase americana é uma zoonose causada pelo Trypanosoma cruzi. Esta enfermidade constitui um importante problema de saúde pública na América Latina. Por conseguinte, este estudo teve por objetivo, investigar os aspectos

* *Endereço p/ correspondência:* Sthenia Santos Albano Amóra. Pça Felipe Guerra, 12, lj 63, Centro, 59600-660, Mossoró, RN, Brasil. *Tel:* (0xx84) 321-4848 / 9408-6282.
E-mail: stheniasantos@yahoo.com.br (S.S.A. Amóra).

epidemiológicos e laboratoriais da tripanossomíase em cães, no Município de Mossoró, Rio Grande do Norte. Após a realização de questionário epidemiológico e testes sorológicos (Imunofluorescência Indireta e Imunoabsorção Enzimática), observou-se que de 198 cães avaliados, 16% mostraram-se soros- reagentes na área rural e 38% na área urbana. Os cães de guarda peridomiciliados que tinha outros cães e/ou gatos como contactantes foram os mais prevalentes. A presença de criações peridomiciliares e as residências de pau-a-pique não foram fatores determinantes na soropositividade dos mesmos. Estes resultados apontam a necessidade de se alertar a população e as autoridades sobre a presença da tripanossomíase no nosso meio, uma vez que as informações contidas nesta pesquisa podem contribuir nas estratégias de controle dos reservatórios domésticos desta zoonose.

Descritores: doença de Chagas, veterinária, sorodiagnóstico e epidemiologia

Abstract

The American trypanosomiasis is a zoonosis caused by *Trypanosoma cruzi* and constitutes an important health problem in Latin America. The aim of this study was to evaluate laboratorial and epidemiological aspects of this disease

in dogs in Mossoró Municipality, Rio Grande do Norte. After epidemiological (questioning) and serological (Indirect Immunofluorescence and Enzyme-linked Immunosorbent assay) tests, it was shown that, from the 198 dogs examined, 16% of the rural dogs and 38% of the urban ones were found to be serum-reactive. Dogs that guard houses and are kept outdoors with other dogs or cats were the most susceptible ones. The close proximity of other animals kept in the same area and clay buildings were not determining factors in their positivity. The information in this study indicates the need to alert the population and authorities about the presence of Trypanosomiasis in

the area and can contribute to the strategies of control of domestic reservoirs.

Keywords: Chagas disease, veterinary, serologic tests and epidemiology

Introdução

A tripanossomíase americana ou doença de Chagas é uma zoonose causada por um protozoário flagelado, denominado *Trypanosoma cruzi*. Esta enfermidade encontra-se amplamente distribuída em todo continente americano¹⁹ e constitui, ainda hoje, um importante problema de saúde pública na América Latina¹⁷. No Brasil, segundo dados do Ministério da Saúde, calcula-se em cerca de cinco milhões o número de infectados, a maioria vivendo nas grandes cidades, em consequência do fluxo de indivíduos de baixa condição sócio-econômica das áreas rurais para os centros urbanos¹⁹.

A principal via de infecção para *T. cruzi* é a vetorial, através de insetos triatomíneos, correspondendo a 80% dos casos da doença¹. Neste tipo de transmissão é indispensável que o vetor esteja presente, infectando e colonizando a moradia de humanos e animais, para que ocorra a transmissão. Tal situação, está condicionada à existência de circunstâncias favoráveis a domiciliação dos vetores, as quais são condições relacionadas ao ambiente e a biologia do parasita. Assim, o mapa da distribuição da doença de Chagas coincide, quase sempre, com o da pobreza¹⁶.

São muitos os vetores da tripanossomíase, mas a maior parte das espécies de triatomíneos não tem participação direta na transmissão domiciliar da doença, no continente americano, admite-se a existência de 112 espécies¹⁶. Só no Nordeste do Brasil, já foram identificadas 27 espécies ou subespécies de triatomíneos transmissores do *T. cruzi*, correspondendo a mais da metade daquelas detectadas no Brasil. Chama a atenção, a grande dispersão de *Panstrongylus megistus*, *Triatoma braziliensis*, *Triatoma pseudomaculata* e do *Triatoma infestans*⁶.

No ciclo doméstico, além do próprio homem, os mamíferos de pequeno e médio porte, como por exemplo, cães e gatos, também participam

do seu entorno como os reservatórios mais importantes¹⁹. Corroborando essa informação, foi constatado que em casas com cães ou gatos infectados o padrão de soropositividade dos membros da residência é maior do que de pessoas que residem em casas cujos animais não estão infectados¹³. Ademais, vários autores têm evidenciado laboratorialmente a presença de *T. cruzi* em cães^{2,12}.

No tocante aos testes sorológicos, a Imunofluorescência Indireta (IFI) apresenta alta sensibilidade a partir do 15º dia de infecção, detectando anticorpos IgG que se encontram mais presentes na fase aguda da doença. O Ensaio Imunoenzimático (ELISA), outro teste de eleição, detecta classes específicas de anticorpos¹⁴. A utilização de duas técnicas na busca de um único diagnóstico permite a execução de uma sorologia confiável, na maioria dos casos¹⁹, como preconiza o Ministério da Saúde. Onde só devem ser considerados positivos os soros reagentes em, pelo menos, dois testes diferentes¹⁵.

Baseado no exposto, o presente trabalho teve por objetivo fazer um estudo epidemiológico da tripanossomíase canina em comunidades urbanas e rurais de áreas endêmicas no Município de Mossoró-RN.

Métodos

Enfoque epidemiológico. A área de estudo foi um Município do sertão nordestino, o Município de Mossoró no Rio Grande do Norte. Situado a 42 km do litoral, entre as cidades de Natal - RN e Fortaleza - CE (a 277km e 260km de distância, respectivamente), possui clima semi-árido, uma população de 213.841 habitantes distribuídos em 199.181 habitantes na área urbana e 14.760 habitantes na zona rural e uma economia baseada na agropecuária, no sal e no petróleo.

A abordagem junto às residências foi realizada com o apoio da Vigilância Sanitária do Município de Mossoró – RN, em residências de áreas rurais e urbanas escolhidas por conveniência vinculadas à presença de cães. A zona rural avaliada incluiu os Sítios Picada, Sítio Chafaris, Sítio Hipólito e Sítio Olho D'água Velho, ambos focos de maior ocorrência dessa enfermidade fora do perímetro urbano, segundo a Vigilância Sanitária do Município. Durante a visita, foi utilizado um questionário epidemiológico, conforme preconizado por

Lauricella *et al.* (1989) e Wisnivesky-Colli *et al.* (1985), visando à obtenção do maior número de informações a respeito das condições de vida da população analisada.

Foram utilizados 198 cães, sendo 136 provenientes de 107 residências urbanas e 62 de 31 propriedades rurais. Os cães investigados foram catalogados em fichas, de acordo com os modelos utilizados por Freitas *et al.* (1952), Gurtler *et al.* (1993) e Uchôa *et al.* (2001), onde foram registrados dados, como: função exercida pelos cães nas residências (guarda, companhia ou caça); presença de criações peridomiciliares (caprinos, ovinos suínos, aves, bovinos e/ou eqüídeos); presença de contactantes (cães e/ou gatos criados em associação); e habitat (peridomicílio ou domicílio, ou seja, animais criados no quintal ou dentro das residências, respectivamente).

Coleta e processamento do espécime clínico. Os cães foram contidos e, após a antisepsia local com álcool iodado 10%, foram coletados 5mL de sangue por venopunção, utilizando-se o sistema *vacuntainer*. Após este procedimento, os tubos foram submetidos a uma inclinação de 45°, por duas horas, e a seguir foram centrifugados por 10 minutos a uma velocidade de 3.000 rpm para favorecer a retração do coágulo. Posteriormente, os soros obtidos foram acondicionados em tubos *ependorff* identificados e submetidos a um congelamento de -20°C, até a realização dos testes sorológicos.

Testes Sorológicos. Os testes IFI e ELISA foram conduzidos em parceria com o Laboratório de Imunomodulação do Departamento de Protozoologia da Fundação Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) no Rio de Janeiro, seguindo os critérios preconizados nesta Instituição.

Para realização da IFI foi utilizado o kit IFI para diagnóstico da doença de Chagas (BIO-MANGUINHOS/FIOCRUZ). Este teste tem como objetivo a detecção de anticorpos contra *T. cruzi* em soros caninos. A reação entre o antígeno fixado e o anticorpo presente nas amostras foi visualizada em lâminas de microscopia após a adição de antiimunoglobulina canina conjugada com isotiocianato de fluoresceína. A leitura, por sua vez, foi realizada com o auxílio de microscópio, que utiliza incidência de luz azul e ultravioleta, sendo considerados reagentes os soros que apresentavam fluorescência, tomando como referência os soros controle positivo e negativo que foram incluídos em cada lâmina.

Quanto ao ELISA, foi utilizado o kit ELISA para diagnóstico da doença de Chagas (BIO-MANGUINHOS/FIOCRUZ), que consiste na reação de

soros caninos com antígenos solúveis e purificados de *T. cruzi*, obtidos a partir de cultura *in vitro*, que foram previamente adsorvidos nos poços das placas. Após a adição dos soros diluídos em diluente de amostra/conjugado na concentração de 1/100, evidenciou-se a reação pela adição do cromógeno tetrametilbenzidina e após 30 minutos foi adicionado o ácido sulfúrico que interrompeu a reação. Em seguida, a leitura das placas foi realizada em espectrofotômetro à 490nm.

Análise estatística. Os dados obtidos foram analisados pelo Teste Exato de Fisher⁵, tendo sido considerado significativos àqueles resultados com $p \leq 0,05$.

Resultados

A partir da amostra populacional da área rural ($n = 62$) foram identificados 10 (16%) cães soros-reagentes para tripanossomíase canina. Na área urbana, por sua vez, foi encontrado um percentual significativamente maior ($p = 0,00$), onde de um total de 136 animais foram encontrados 52 cães (38%) soros-reagentes (tabela 1).

Na tabela 2 encontra-se ilustrado o resultado da sorologia em relação à função exercida pelos cães. Os cães de guarda de procedência urbana foram mais representativos estatisticamente ($p = 0,00$), correspondendo a 37 cães (41%) quando comparados aos cinco cães prevalentes (10%) encontrados na área rural. Tanto na área rural quanto na urbana, não se observou diferença significativa no percentual de cães prevalentes nas demais funções exercidas.

No tocante ao habitat dos cães soros-reagentes, pôde-se constatar que os cães que mantinham maior contato com o ar livre, vegetação, outros animais e inclusive com ecótopos dos vetores e que residiam na área urbana, foram significativamente ($p = 0,00$) mais prevalentes, correspondendo a 46 (37%), conforme pode ser observado na tabela 3.

Considerando a análise comparativa dos carnívoros domésticos contactantes que correspondiam aos cães e/ou gatos criados junto com os animais avaliados, foi observada que, na área urbana o percentual de cães soros-reagentes 37 (36%) que coabitavam com outros carnívoros domésticos

foi superior estatisticamente ($p = 0,01$) do percentual de 16% de cães soros-
reagentes da área rural que se encontravam na mesma situação (tabela 4).

Em função do tipo de moradia, tanto na área rural quanto na urbana os cães prevalentes provenientes de residências de alvenaria foram mais prevalentes, correspondendo a 19% e 39% respectivamente. Havendo ainda, um percentual estatisticamente significativo ($p = 0,02$) dos cães prevalentes do meio urbano.

Considerando a presença de criações peridomiciliares que, por sua vez correspondiam a suínos, caprinos, bovinos, eqüídeos e/ou aves que mantinham contato com os cães avaliados, foi observado que o percentual de prevalentes foi estatisticamente maior ($p = 0,04$) entre os cães do meio urbano (35%). Embora, tenha sido observado também que, o maior percentual de prevalentes (40%) nesse meio concentrou-se entre os cães que não coabitam com essas criações (tabela 5).

Discussão

Os resultados demonstraram a existência de uma prevalência maior entre os cães provenientes da área urbana. A pequena diferença de soropositividade entre os resultados dos testes no meio urbano (38% no IFI e 35% no ELISA), corrobora os achados de Zauza e Borges-Pereira (2001)²⁰, em um levantamento realizado em humanos, foi observado percentual equivalente a 37% para o IFI e 45% para o ELISA. Essas diferenças podem ser atribuídas, aos diferentes intervalos de tempo, número e origem dos pacientes, além das questões técnicas dependentes de variações nos componentes dos kits empregados, assim como as diferenças laboratoriais²⁰, que apesar de causar pequenas oscilações nos resultados, não interferem na análise dos achados, pois as variações encontradas são mínimas.

Ainda com relação às variações de resultados entre os testes e às possíveis reações cruzadas, deve ser levado em consideração, o estado de

saúde do animal, onde é provável que baixos títulos de anticorpos específicos sejam devido a outros agentes infecciosos presentes que levem a desnutrição¹⁰. Neste âmbito, foi demonstrado por Carlomagno *et al.* (1996)⁴ que ratos com dietas pobre em proteínas apresentaram uma depleção no número de anticorpos específicos para *T. cruzi*. E Derouin *et al.* (1993)⁵ acrescentaram ainda que baixo número destes anticorpos detectáveis em testes sorológicos pode ser devido a tratamentos imunossupressivos, como foi observado em seu trabalho com humanos infectados com *T. cruzi* ou *Toxoplasma gondii* que sujeitos a transplante de órgãos apresentaram soronegatividade para ambos parasitas como consequência do tratamento de imunossupressão.

Os cães de guarda peridomiciliados, criados com outros carnívoros domésticos provenientes da área urbana foram mais prevalentes. Essa característica urbana e peridomiciliar que a tripanossomíase vem ganhando com o passar dos anos, especialmente no nordeste, têm resultado tanto da contínua migração rural-urbana na região, como da pobreza e do aspecto semi-rural dos bairros periféricos de muitas cidades nordestinas⁶. Onde até 1998, por exemplo, a tripanossomíase ainda mantinha seu caráter rural, como foi apresentado por Cabral *et al.*, (1998)³ em Uberlândia – MG. Contudo, agora, passado quase seis anos nosso estudo comprova essa mudança, onde os resultados mais relevantes concentram-se no perímetro urbano.

No que se refere ao material de construção das casas, não só residências rurais, mas também residências urbanas com pouca infra-estrutura, representam um ecótopo ideal no qual os barbeiros podem prosperar. Por outro lado, residências de alvenaria, em áreas cercadas por plantações ou aldeias localizadas próxima aos grandes centros, freqüentemente podem ser visitadas pelos vetores, sem, no entanto se tornarem infestadas. Portanto, em ambos os casos, os cães têm chance de entrar em contato com estes insetos e se infectar¹².

Isto explicaria os índices de prevalência relativamente alto de cães criados ao ar livre se tornarem infectados pelo *T. cruzi* em algumas áreas, mesmo aquelas onde há casas de alvenaria com famílias de alta renda, boa infraestrutura e alto índice sócio-econômico¹². Fato que só vem reafirmar as mudanças no caráter rural e de baixa renda que esta enfermidade vem sofrendo. Além disso, é importante ressaltar que foi bastante baixo o número de casas de pau-a-pique encontradas neste estudo (n = 18), mesmo no meio rural, o que possivelmente tenha intensificado a significância estatística dos cães prevalentes provenientes de casas de alvenaria.

Apesar de serem ecótopos naturais do vetor, a presença de criações peridomiciliares, pareceu não influenciar a sorologia positiva dos animais. Contudo, existem outros fatores associados à atratividade do vetor e desequilíbrio do seu ciclo natural que explicam a domiciliação associada à urbanização dessa enfermidade. Por exemplo, o barbeiro pode ser trazido às casas juntamente com lenha ou ainda voando livremente, atraído pelas luzes¹². Fatos que podem ser justificados pelo trabalho realizado por Uchôa *et al.*, (2001)¹⁸, os quais afirmaram que uma ocupação desordenada pelos humanos, principalmente próximo a encostas e/ou matas, acarretando desequilíbrios ambientais, favorecem a instalação do ciclo extraflorestal deste tipo de doença.

Baseados nesses resultados, foi possível fazer uma análise do perfil da tripanossomíase, a partir dos dados epidemiológicos do cão. Onde pôde-se observar que cães de guarda peridomiciliados, criados com outros carnívoros domésticos e provenientes da área urbana foram mais prevalentes. Por fim, o presente estudo mostrou a importância de se fazer um diagnóstico preciso e inquérito epidemiológico a cerca dessa zoonose, onde estas informações poderão contribuir para o planejamento de estratégias de controle do vetor e reservatórios domésticos, tendo sido o cão implicado como principal reservatório domiciliar em virtude de seu íntimo contato com os seres humanos.

Agradecimentos

Os autores agradecem à bióloga Tânia Zaverucha do Valle do Laboratório de Imunomodulação do Departamento de Protozoologia da

FIOCRUZ – RJ e à médica veterinária Gláucia Maria de Oliveira Barbosa pela fundamental participação no desenvolvimento do trabalho laboratorial; e à Jaqueline Bianque de Oliveira do Departamento de Biologia da UFRPE-PE pelo apoio na realização deste estudo.

Referências

1. ARAS, R, GOMES, I, VEIGA, M, MELO, A. Transmissão vetorial da Doença de Chagas em Mulungu do Morro, Nordeste do Brasil, 2003. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2003; 36 (3): 359-363.
2. ARAÚJO, FMG *et al.*, Follow-up of experimental chronic Chagas' disease in dogs: use of polymerase chain reaction (PCR) compared with parasitological and serological methods, 2002; *Acta Trop.* 81: 21-31.
3. CABRAL, DD, SILVA, DAO, MIRANDA, EO, CUNHA L., FUKUSSIMA, AC, STUTZ W, BASTOS, JED, FERREIRA, FA. Detecção de anticorpos anti-*Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* e *L. donovani*, anti-*Trypanosoma cruzi* e anti-*Toxoplasma gondii* em cães da área rural do Município de Uberlândia, MG, Brasil. *Vet. Not.*, 1998; 4(1): 15-19.
4. CARLOMAGNO, M, LEER, G, ESTEVA, M, HANSEN, D, SEGURA, EL. Role of protein deficiency on the course of *Trypanosoma cruzi* infection and on the degree of protection conferred by a flagella fraction, 1996. *J. Nutrit. Immunol.* 1996; 4: 37-45.
5. DEROUIN, F, DEVERGIE, A, AUBER, P, CLUCKMAN, E, BEAUVAIS, B, GARIN, YJF, LARIVIERE, M, 1993. *Clin. Inf. Dis.* 1993; 15: 267-270.
6. DIAS, JCP, MACHADO, EMM, FERNANDES, AL, VINHARES, MC. Esboço geral e perspectivas da Doença de Chagas no Nordeste do Brasil, 2000. *Cad. Saúde Pública.* 2000; 16 (2): 13-34.

7. FISHER, RA. The logic of inductive inference, 1935. *J. R. Stat. Soc.* 1935; 98: 34-54.
8. FREITAS, JLP, ROCHA, UF, VASQUEZ, JAZ. Inquérito preliminar sobre a infecção pelo *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) entre cães e gatos domésticos no município de Campo Florido (Triângulo Mineiro), Minas Gerais, Brasil, 1952. *Rev. Fac. Med. Vet.* 1952; 4 (4): 545-551.
9. GURTLER, RE, CECERE, MC, PETERSEN, RM. Chagas disease in a northwest Argentina: association between *Trypanosoma cruzi* parasitaemia in dogs and cats and infection rates in domestic *Triatoma infestans*, 1993. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1993; 87 (1): 12-15.
10. LAURICELLA, MA, CASTAÑERA, MB, GURTLER, RE, SEGURA, EL. Immunodiagnosis the *Trypanosoma cruzi* (Chaga's Disease) infection in naturally infected dogs, 1998. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 1998; 93 (4): 501-507.
11. LAURICELLA, MA, SINAGRA, AJ, PAULONE, L, RIARTE, AR, SEGURA, EL. Natural *Trypanosoma cruzi* infection in dogs of endemic areas of the Argentine Republic, 1989. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo.* 1989; 31 (2): 63-70.
12. MONTENEGRO, VM, JIMÉNEZ, M, DIAS, JCP, ZELEDÓN, R. Chaga's Disease n dogs from endemic areas of Costa Rica, 2002. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 2002; 97 (4): 491-494.
13. MOTT, KE, MOTT, EA, SHERLOCK, L *et al.*, *Trypanosoma cruzi* infection in dogs and cats and household seroreactivity to *T. cruzi* in a rural community in northeast Brazil, 1979. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1979; 27 (6): 1123-1127.
14. NEVES, DP, MELO, AL, GENARO, O, LINARDI, PM. *Parasitologia Humana*. 9ª edição. Rio de Janeiro; Atheneu; 1995.

15. SESSA, PA, PIMENTEL, RR, FERREIRA, AL, FALQUETO, A. Soroprevalência da Doença de Chagas em crianças em idade escolar do estado do Espírito santo, Brasil, em 1999-2000, 2002. *Cad. Saúde Pública*. 2002; 18 (6): 1765-1769.
16. SILVEIRA, AC. Situação do controle vetorial da Doença de Chagas nas Américas, 2000. *Cad. Saúde Pública*. 2000; 16 (2): 35-42.
17. UCHÔA, E, FIRMO, JOA, DIAS, EC, PEREIRA, MSN, GONTIJO, ED. Signos, significados e ações associadas à Doença de Chagas, 2002. *Cad. Saúde Pública*. 2002; 18 (1): 71-79.
18. UCHÔA, CMA *et al.*,. Aspectos sorológicos e epidemiológicos da leishmaniose tegumentar americana em Maricá, Rio de Janeiro, Brasil, 2001. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2001; 34 (6): 563-568.
19. VERONESI, R, FOCACCIA, R. *Tratado de Infectologia*. 2ª edição. São Paulo; Atheneu; 2002.
20. ZAUZA, PL, BORGES-PEREIRA, J. Níveis séricos de IgG anti-*Trypanosoma cruzi* na evolução da cardiopatia chagásica crônica, no período de 10 anos, 2001. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop. São Paulo*. 2001; 34 (5).
21. WISNIVESKY-COLLI, C, GURTLER, RE, SOLARZ, ND. Epidemiological role of humans, dogs and cats in the transmission of *Trypanosoma cruzi* in a central area of Argentina, 1985. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*. 1985; 27 (6): 346-352.

Tabela 1: Soroprevalência de cães para *Trypanosoma cruzi* em área urbana e rural de Mossoró-RN, através dos testes IFI e ELISA.

Procedência	Negativo		Positivo		Total
	prevalência	%	prevalência	%	
Rural	52	83,87	10	16,13	62
Urbano	84	61,76	52*	38,24 ^a	136
Total	136	68,69	62	31,31	198

^aNo meio urbano existe um maior percentual de positivos ($p = 0,00$)⁷.

Tabela 2: Soroprevalência de cães da área urbana e rural de Mossoró-RN para *Trypanosoma cruzi* em relação à função exercida por eles, através dos testes IFI e ELISA.

Procedência	Resultado	Caça	Companhia	Guarda	Total
Rural	negativo	5	2	45	52
	positivo	2	3	5	10
	total	7	5	50	62
Urbano	negativo	3	27	54	84
	positivo	1	14	37 ^a	52
	total	4	41	91	136

^aEntre os cães de guarda existe um maior percentual de positivos nos cães do meio urbano ($p = 0,00$)⁷.

Tabela 3: Soroprevalência de cães da área urbana e rural de Mossoró-RN para *Trypanosoma cruzi* em relação ao habitat dos mesmos, através dos testes IFI e ELISA.

Procedência	Resultado	Domicílio	Peridomicílio ¹	Total
Rural	negativo	--	52	52
	positivo	1	9	10
	total	1	61	62
Urbano	negativo	5	79	84
	positivo	6	46 ^a	52
	total	11	125	136

^aEntre os cães no habitat peridomicílio o percentual de positivos é maior nos cães do meio urbano ($p = 0,00$)⁷.

¹Corresponde aos cães criados por seus donos no quintal das residências.

Tabela 4: Soroprevalência de cães da área urbana e rural de Mossoró-RN para *Trypanosoma cruzi* em relação aos carnívoros contactantes, através dos testes IFI e ELISA.

Procedência	Resultado	Ausência de contactantes*	Presença de contactantes	Total
Rural	negativo	6	46	52
	positivo	1	9	10
	Total	7	55	62
Urbano	negativo	19	65	84
	positivo	15	37 ^a	52
	total	34	102	136

^aEntre os cães com a presença de contactantes o percentual de positivos é maior nos cães do meio urbano ($p = 0,01$)⁷.

*Corresponde a cães e/ou gatos que mantinham contato com os animais avaliados.

Tabela 5: Soroprevalência de cães da área urbana e rural de Mossoró-RN para *Trypanosoma cruzi* em relação às criações peridomiciliares, através dos testes IFI e ELISA.

Procedência	Resultado	Ausência de criações*	Presença de criações	Total
Rural	negativo	7	45	52
	positivo	2	8	10
	Total	9	53	62
Urbano	Negativo	52	32	84
	Positivo	35	17 ^a	52
	Total	87	49	136

^aEntre os cães com a presença de criações o percentual de positivos é maior nos cães do meio urbano ($p = 0,04$)⁷.

*Corresponde a suínos, bovinos, caprinos, ovinos, aves e eqüídeos que mantinham contato com os cães avaliados.

7. CONCLUSÕES

- Foi alta a prevalência encontrada para *T. cruzi* e *L. chagasi* no Município de Mossoró, RN, tanto na área rural como na urbana;
- Os resultados sobre o *T. cruzi* demonstraram a existência de uma prevalência maior entre os cães provenientes da área urbana. Contudo, não houve diferença de prevalência para *L. chagasi* entre os cães da área urbana e rural, embora tenha havido um maior percentual de cães prevalentes entre os animais avaliados no meio rural;
- Os cães de guarda peridomiciliados, criados com outros carnívoros domésticos foram mais prevalentes tanto para *T. cruzi* quanto para *L. chagasi*;
- No que se refere ao material de construção das casas, não só residências rurais, mas também residências urbanas com pouca infra-estrutura, ou situadas próximo às plantações representam um ecótopo ideal no qual os barbeiros podem prosperar;
- Apesar de serem ecótopos naturais do barbeiro, a presença de criações peridomiciliares, não influenciou a sorologia positiva dos animais para *T. cruzi*. Em contrapartida, para a *L. chagasi*, observou-se que a prevalência dos cães concentrou-se entre aqueles que mantinham contato com essas criações, independente da procedência;
- E no tocante ao sexo, apenas às cadelas provenientes do meio rural se apresentaram susceptíveis à *L. chagasi*;
- Baseados nesses resultados, o presente estudo mostra a grande importância em se fazer um diagnóstico preciso e inquérito epidemiológico a cerca dessas zoonoses, haja vista que estas informações podem contribuir

para o planejamento de estratégias de controle do vetor e reservatórios domésticos.

- Ademais, neste estudo foi possível fazer uma análise do perfil da leishmaniose e tripanossomíase canina, a partir dos dados epidemiológicos do cão, que tem sido implicado como principal reservatório domiciliar dessa zoonose em virtude de seu íntimo contato com os seres humanos.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALENCAR, J. E.; HOLANDA, D.; CAVALCANTE, J. D. N. Leishmaniose visceral no Vale do Jaguaribe, Ceará, 1955. **Revista Brasileira Malariologia e Doenças Tropicais**, v. 8, p. 33-48, 1956.

ALENCAR, J. E. Profilaxia do leishmaniose visceral no Ceará, Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 3, n. 4, p. 175-180, 1961.

ALENCAR, J. E.; CUNHA, R. V. Inquéritos sobre leishmaniose visceral canino no Ceará – Novos resultados. **Revista Brasileira Malariologia e Doenças Tropicais**, v. 36, p. 391-404, 1963.

ALENCAR, J. E. **História Natural da Doença de Chagas no Estado do Ceará**. Fortaleza: Imprensa Universitária, Universidade Federal do Ceará, 1987.

ALENCAR, J. E.; DIETZE, R. Leishmaniose visceral. In: VERONESI, R. **Doenças Infecciosas e Parasitárias**. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. 706-717.

ARAS, R.; GOMES, I.; VEIGA, M.; MELO, A. Transmissão vetorial da Doença de Chagas em Mulungu do Morro, Nordeste do Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 3, p. 359-363, 2003.

ARAÚJO, F. M. G. *et al.* Follow-up of experimental chronic Chagas' disease in dogs: use of polymerase chain reaction (PCR) compared with parasitological and serological methods. **Acta Tropical**, v. 81, p. 21-31, 2002.

BARBOSA G. M. S.; MARZOCHI M. C. A.; MASSARD C. L.; LIMA G. P. S.; CONFORT E. M. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose tegumentar americana em cães, no Município de Paraty, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 15, n. 3, p. 641-646, 1999.

BRENER, Z.; ANDRADE, Z. **Trypanosoma cruzi e Tripanossomíase canina**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1979.

CABRAL, D. D.; SILVA, D. A. O.; MIRANDA, E. O.; CUNHA L.; FUKUSSIMA, A. C.; STUTZ W.; BASTOS, J. E. D.; FERREIRA, F. A. Detecção de anticorpos anti-*Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* e *L. donovani*, anti-*Trypanosoma cruzi* e anti-*Toxoplasma gondii* em cães da área rural do Município de Uberlândia, MG, Brasil. **Veterinária Notícias**, v. 4, n. 1, p. 15-19, 1998.

CAMACHO, A. A. Cardiomiopatia chagásica em cães. In: BELERENIAN, G. C.; MUCHA, C. J.; CAMACHO, A. A. **Afecções Cardiovasculares em Pequenos Animais**. São Paulo: Interbook, 2003. 162-165.

CARLOMAGNO, M.; LEER, G.; ESTEVA, M.; HANSEN, D.; SEGURA, E.L. Role of protein deficiency on the course of *Trypanosoma cruzi* infection and on the degree of protection conferred by a flagella fraction. **Journal Nutritional Immunology**, v. 4, p. 37-45, 1996.

CHAGAS, E.; FERREIRA, L. C.; DEANE, G.; DEANE, L.; GUIMARÃES, N. Leishmaniose visceral americana. II. Estudos epidemiológicos. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 33, p. 138-206, 1938.

DEANE, L. M.; DEANE, M. P. Observações preliminares sobre a importância comparativa do homem, do cão e da raposa (*Lycalopex vetulus*) como

reservatórios da *Leishmania donovani*, em área endêmica de leishmaniose visceral, no Ceará. **O Hospital**, v. 48, n. 1, p. 79-96, 1955.

DESJEUX, P. Urbanisation of the leishmaniasis. Canine leishmaniasis: moving towards a solution. In: SECOND INTERNATIONAL OF THE CANINE LEISHMANIASIS FORUM, 2, 2002. Sevilla, **Proceedings** Sevilla: Spain, 2002. p. 49-55.

DEROUIN, F.; DEVERGIE, A.; AUBER, P.; CLUCKMAN, E.; BEAUVAIS, B.; GARIN, Y. J. F.; LARIVIERE, M. **Clinical Infectious Disease**, v. 15, p. 267-270, 1993.

DIAS, J. C. P.; COURA, J. R. Epidemiologia. In: DIAS, J. C. P.; COURA, J. R. **Clínica e Terapêutica da Doença de Chagas** – Uma abordagem prática para o clínico geral. Rio de Janeiro: Fiocruz, 1997. 33-65.

DIAS, J. C. P.; MACHADO, E. M. M.; FERNANDES, A. L.; VINHARES, M. C. Esboço geral e perspectivas da Doença de Chagas no Nordeste do Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 16, n. 2, p. 13-34, 2000.

ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de Medicina Veterinária Interna – Moléstias do Cão e do Gato**. 4ª ed. São Paulo: Manole, v. 1, 1997.

FEITOSA, M. M.; IKEDA, F. A.; LUVIZOTTO, M. C. R.; PERRI, S. H. V. Aspectos clínicos de cães com leishmaniose no Município de Araçatuba – São Paulo (Brasil). **Clínica Médica**, v. 5, n. 28, p. 36-44, 2000.

FERNANDES, A.; CHIARI, E.; CASANOVA, C.; DIAS J. C.; ROMANAHA A. J. The threat of reintroduction of natural transmission of Chagas's disease in Bambuí, Minas Gerais state, Brazil, due to *Panstrongylus megistus*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 87, n. 2, p. 285-289, 1992.

FISHER, R. A. The logic of inductive inference. **Journal of the Royal Statistical Society**, v. 98, p. 34-54, 1935.

FRANÇA-SILVA J. C.; COSTA R. T.; SIQUEIRA A. M.; MACHADO-COELHO G. L. L.; COSTA C. A.; MAYRINK W.; VIEIRA E. P.; COSTA J. S.; GENARO O.; NASCIMENTO E. Epidemiology of canine visceral leishmaniasis in the endemic área of Monte Claros municipality, Minas Gerais State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 111, p. 161-173, 2003.

FREITAS, J. L. P.; ROCHA, U. F.; VASQUEZ, J. A. Z. Inquérito preliminar sobre a infecção pelo *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) entre cães e gatos domésticos no município de Campo Florido (Triângulo Mineiro), Minas Gerais, Brasil. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária**, v. 4, n. 4, p. 545-551, 1952.

GIMENO ONDOVILLA, A. Contribución a la epidemiologia del kala-azar. **Tropical Disease Bulletin**, v. 30, p. 752, 1933.

GONÇALVES DA COSTA, S. C. **Estudo sobre a Tripanossomíase canina** [on line]. Jan. 2002. [cited 15.06.2004]. <http://www.ioc\chagas\epidemiologia\epidemiologia.htm>.

GURTLER, R. E.; CECERE, M. C.; PETERSEN, R. M. Chagas disease in a northwest Argentina: association between *Trypanosoma cruzi* parasitaemia in dogs and cats and infection rates in domestic *Triatoma infestans*. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 87, n. 1, p. 12-15, 1993.

IKONOMOPOULOS J.; KOKOTAS S.; GAZOUL M.; ZAVRAS A.; STOITSIOU M.; GORGOULIS V. G. Molecular diagnosis of leishmaniasis in dogs. Comparative application of traditional diagnostic methods and the proposed assay on clinical samples. **Veterinary Parasitology**, v. 113, p. 99-113, 2003.

LAURICELLA, M. A.; SINAGRA, A.J.; PAULONE, L.; RIASTE, A. R.; SEGURA, E. L. Natural *Trypanosoma cruzi* infection in dogs of endemic areas of the Argentine Republic. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**,

v. 31, n. 2, p. 63-70, 1989.

LAURICELLA, M. A.; WISNIVESKY-COLLI, C.; GURTLER, R. E.; PETERSEN, R.; BUJAS, M.; SEGURA, E. L. Standardization of serological testis for detecting anti-*Trypanosoma cruzi* antibodies in dogs. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 88, n. 3, p. 413-417, 1993.

LUNA, E. Uso do antimoniato de meglumina em cães – Nota Técnica 30/01/2004 – Ministério da Saúde. **Clínica Veterinária**, v. 49, p. 22, 2004.

MARCONDES C. B.; PIRMEZ C.; SILVA E. S.; LAURENTINO-SILVA V.; STEINDEL M.; SANTOS A. J.; SMANIOTTO H.; SILVA C. F. B.; SCHUCK NETO V. F.; DONETTO A. Levantamento de leishmaniose visceral em cães de Santa Maria e municípios próximos, Estado do Rio Grande do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 4, p. 499-501, 2003.

MELLO, G. B. Verificação da infecção natural do gato (*Felix domesticus*) por um protozoário do gênero *Leishmania*. **Brasil Médico**, v. 54, p. 180, 1940.

MICHALICK M. S. M. Leishmaniose visceral canina: Diagnóstico. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 40, p. 144-145, 2003.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília: Ministério da Saúde, 2003.

MOHAMMED E. A. E. R.; WRIGHT E. P.; KAGER P. A.; LAARMAN J. J.; PONDMAN K. W. ELISA using intact promastigotes for immunodiagnosis of kala-azar. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 79, p. 344-350, 1985.

MONTEIRO, G. **Tripanossomíase canina** [on line]. Set. 2002. [cited 15.06.2004] <http://www.netium.com.br/lcpa/Doenca.htm>.

MONTENEGRO, V. M.; JIMÉNEZ, M.; DIAS, J. C. P.; ZELEDÓN, R. Chaga's Disease in dogs from endemic areas of Costa Rica. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 4, p. 491-494 2002.

MOREIRA M. A. B.; LUVIZOTTO M. C. R.; NUNES C. M.; SILVA T. C. C.; LAURENTI M. D.; CORBETT C. E. P. Aplicação da técnica de imunofluorescência direta para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina em aspirado de linfonodo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 39, p. 2, 2002.

MORAES, J. E. R. **Leishmaniose Canina** [on line]. Dept.^o Patologia Veterinária, Unesp –Jaboticabal. Set. 2003. [cited 15.06.2004] http://www.fcav.unesp.br/departamentos/patologia/mat_didatico/aula%20leishp%C3%B3s18.pdf.

MOTT, K.E.; MOTT, E.A.; SHERLOCK, L. *Trypanosoma cruzi* infection in dogs and cats and household seroreactivity to *T. cruzi* in a rural community in northeast Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 27, n. 6, p. 1123-1127, 1979.

MOURA, S. T.; FERNANDES, C. G. N.; PANDOLPHO, V. C.; RODRIGUES E SILVA, R. Diagnóstico de leishmaniose canina na área urbana do Município de Cuiabá, Estado de Mato Grosso, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 36, p. 2, 1999.

NEVES, D. P.; MELO, A. L.; GENARO, O.; LINARDI, P. M. **Parasitologia Humana**. 9^a ed., Rio de Janeiro: Atheneu, 1995.

PENNISI, M. G. A high prevalence of feline leishmaniasis in southern Italy. Canine leishmaniasis: moving towards a solution. In: SECOND INTERNATIONAL OF THE CANINE LEISHMANIASIS FORUM, 2, 2002. Sevilla, **Proceedings** Sevilla: Spain, 2002. p. 39-48.

REY, L. Tripanossomíase por *Trypanosoma cruzi*: A doença. In: REY, L. **Parasitologia**. Parasitos e doenças da homem na Américas e na África. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 162-197.

SAVANI E. S. M. M.; SCHIMONSKY B.; CAMARGO M. C. G. O.; D'AURIA S. R. N. Vigilância de leishmaniose visceral Americana em cães de área não endêmica, São Paulo. **Revista de Saúde Pública**, v. 37, n. 2, p. 260-262, 2003.

SESSA, P. A.; PIMENTEL, R. R.; FERREIRA, A. L.; FALQUETO, A. Soroprevalência da Doença de Chagas em crianças em idade escolar do estado do Espírito santo, Brasil, em 1999-2000. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 18, n. 6, p. 1765-1769, 2002.

SILVA, R. A.; CARVALHO, M. E.; RODRIGUES, V. L. C. C. **Tripanossomíase canina – Profissionais da saúde** [on line]. Out. 2002. [cited 15.06.2004] http://www.sucen.sp.gov.br/doencas /chagas/texto_chagas_pro.htm#tinfes.

SILVEIRA, A. C. Situação do controle vetorial da Doença de Chagas nas Américas. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 16, n. 2, p. 35-42, 2000.

SIMÕES-MATTOS, L. **Estudo da infecção natural por *Leishmania chagasi* pela técnica de ELISA em gatos domésticos (*Felis catus*) da região de Fortaleza, Ceará**. Fortaleza, 2002. 56p. Monografia (Graduação em Saúde Pública) - Escola de Saúde Pública do Ceará, Universidade Estadual do Ceará.

SOUTO Jr, J. V.; RIBEIRO, M. A. A. **Saúde e Vida On Line / Tripanossomíase canina** [on line]. Out. 2002. [cited 15.06.2004] [http://www.nib.unicamp.br/svol/chagas](http://www.nib.unicamp.br/svol/chagas.htm).htm.

VASCONCELOS, I. A. B.; VASCONCELOS, A. W.; MOMEM, H.; GRIMALD Jr., G.; ALENCAR, J. E. Epidemiological studies on American leishmaniasis in

Ceará State, Brazil – Molecular characterization of the *Leishmania* isolates. **Annals Tropical Medicine Parasitology**, v. 82, n. 6, p. 547-554, 1988.

VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Tratado de Infectologia**. 2ª ed. São Paulo: Atheneu, 2002.

VIEIRA, C. L. F. R. **Alterações do sistema nervoso central de cães tratados com benzonidazol**. São Paulo, 1992. 192 p. Tese (Doutorado em Fisiologia Geral), Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

UCHÔA, C. M. A.; SERRA, C. M. B.; DUARTE, R.; MAGALHÃES, C. M.; SILVA, R. M.; THEOPHILO, F.; FIGLIUOLO, L. P.; HORTA, F. T.; MADEIRA, M. F. Aspectos sorológicos e epidemiológicos da leishmaniose tegumentar americana em Maricá, Rio de Janeiro, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, n. 6, p. 563-568, 2001.

UCHÔA, E.; FIRMO, J. O. A.; DIAS, E. C.; PEREIRA, M. S. N.; GONTIJO, E. D. Signos, significados e ações associados à Doença de Chagas. **Cadernos de Saúde Pública**. v. 18, n. 1, p. 71-79, 2002.

USSUI, E. C. A.; SILVA, R. A. **Tripanossomíase canina** [on line]. Out. 2002. [cited 22.06.2004] http://www.sucen.sp.gov.br/doencas/chagas/texto_chagas.htm.

ZAUZA, P. L.; BORGES-PEREIRA, J. Níveis séricos de IgG anti-*Trypanosoma cruzi* na evolução da cardiopatia chagásica crônica, no período de 10 anos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, p. 5, 2001.

WERKHAUSER, M. Prevenção. **Clínica Veterinária**, v. 49, p. 21, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Control of Leishmaniasis. **Technical Report Series**, v. 793, p. 50-52, 1990.

WISNIVESKY-COLLI, C.; GURTLER, R. E.; SOLARZ, N. D. Epidemiological

role of humans, dogs and cats in the transmission of *Trypanosoma cruzi* in a central area of Argentina. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 27, n. 6, p. 346-352, 1985.

APÊNDICE

QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO

LOCALIZAÇÃO:

PROPRIETÁRIO:

HABITANTES Nº:

ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO Nº / ESPÉCIES:

MATERIAL DE QUE É FEITA A CASA:

MATERIAL QUE CONSTITUI O PERIDOMICÍLIO: (ESTÁBULOS, POCILGAS, GALINHEIROS...).

