

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**

JUDAS TADEU FRANCISCO DE OLIVEIRA

**FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI- *Leishmania Viannia braziliensis*
(VIANNA, 1911) EM CANINOS E EQUÍDEOS EM ÁREAS DE OCORRÊNCIA DA
LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA NO MUNICÍPIO DO CABO DE
SANTO AGOSTINHO, PERNAMBUCO, BRASIL**

**RECIFE
2011**

JUDAS TADEU FRANCISCO DE OLIVEIRA

**FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI- *Leishmania Viannia braziliensis*
(VIANNA, 1911) EM CANINOS E EQUÍDEOS EM ÁREAS DE OCORRÊNCIA DA
LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA NO MUNICÍPIO DO CABO DE
SANTO AGOSTINHO, PERNAMBUCO, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Lêucio Câmara Alves

**RECIFE
2011**

JUDAS TADEU FRANCISCO DE OLIVEIRA

**FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI- *Leishmania Viannia braziliensis*
(VIANNA, 1911) EM CANINOS E EQUÍDEOS EM ÁREAS DE OCORRÊNCIA DA
LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA NO MUNICÍPIO DO CABO DE
SANTO AGOSTINHO, PERNAMBUCO, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Lêucio Câmara Alves

Aprovada em/...../.....

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. LÊUCIO CÂMARA ALVES
Orientador – Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

Dr. MARCO ANTONIO GRANJA BARBOSA
Médico Veterinário – Hospital Veterinário Harmonia

Profa. Dra. GILCIA APARECIDA DE CARVALHO E SILVA
Unidade Acadêmica de Garanhuns da UFRPE

Prof. Dr. JEAN CARLOS RAMOS DA SILVA
Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

Dedicatória

Dedico este trabalho, aos meus pais que, com seu sacrifício, deram-me oportunidade de estudar e aprender, ensinando-me ainda a trilhar o caminho da honestidade, da honradez e o respeito às pessoas e instituições.

Dedico este trabalho ainda, ao meu filho Ricardo Carvalho de Oliveira, pelo que representa em minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, a Deus, por ter me dado saúde, perseverança e acima de tudo coragem para enfrentar adversidades.

À minha esposa, Luciana, pela dedicação e compreensão nos momentos de dificuldades.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Lêucio Câmara Alves, pelos ensinamentos, dedicação, e consideração dispensadas ao discente e ao profissional.

Ao Prof. Dr. Frederico Maia Filho, da UFRPE, pelo estímulo e auxílio nas análises do material destinado a diagnósticos histopatológicos.

Aos Professores da UFRPE, Dr. Rinaldo Aparecido da Mota, Dra. Maria Aparecida da Gloria Faustino, Dr. Jean Carlos Ramos da Silva e sua esposa, Dra. Fernanda Manuelle, Dr. Valdemiro Amaro da Silva Junior, Dra. Andrea Paiva, e da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) a Dra. Elizabeth de Sampaio de Medeiros, que contribuíram de alguma maneira para minha formação acadêmica.

À Dra. Celeste da Silva Freitas de Sousa, da Fundação Oswaldo Cruz do Rio de Janeiro, pelo fornecimento do antígeno utilizado no meu experimento.

Aos colegas da minha turma de Mestrado pela amizade, cooperação e companheirismo.

Aos amigos e colegas do laboratório de doenças parasitárias, Rafael, Danillo, Márcia Paula, Hévila, Karina, Mariana Galindo, Gil, Rebeca, Marcelo, George, Marcos Granja, que sempre demonstraram boa vontade, cooperando de maneira efetiva nas minhas tarefas e atividades no laboratório.

A todos que fazem a Coordenação do Programa de Pós Graduação em Ciência Veterinária da UFRPE

À Prefeitura do Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco.

Ao centro de Vigilância Ambiental da Prefeitura do Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco, às doutoras Maria do Carmo Campos Ribeiro e Viviane Maria Ribeiro Pina, e a todos que de uma maneira direta ou indireta contribuíram para a execução do projeto

Ao meu colega e amigo Dr. Gerson Harrop Filho, ilustre presidente do CRMV-PE.

Ao Engenheiro Agrônomo Dr. José Soares Cardoso, Diretor Técnico da SFA-PE, MAPA, pela amizade e apoio irrestrito, e ao Dr. José Maurício Cavalcanti, ex-superintendente da SFA-PE, MAPA.

Ao Dr. Denildo Pereira de Lima, Superintendente da SFA-PE, MAPA.

Ao Dr Nahor Gueiros, Assessor Técnico da SFA-PE, MAPA.

Ao Engenheiro Agrônomo Dr. Pedro Rodolfo Filho, cuja colaboração foi fundamental na organização e armazenamento dos dados estatísticos do meu projeto.

Meus agradecimentos aos demais colegas do VIGIAGRO, Aeroporto do Recife, SFA, PE. Os FFA Engenheiros Agrônomos: Dra Ana Mehir, Moacir Sobreira, Carlos Pires, Tereza Cecília, Marroquim, Fátima, Junior, Sérgio e Abelardo “in memoriam”. Os FFA Médicos Veterinários: Maurão, Marcos Barros, Maria de Lourdes, Robério, João Duque, Romero Cintra e Marineuza.

Ao meu colega, amigo e companheiro do VIGIAGRO, Aeroporto Internacional do Recife, Dr. José Rodrigues da Gama, pelo incentivo e apoio nos meus projetos de vida e profissional, “*in memoriam*”.

E todos aqueles que por lapso ou omissão não tiveram seus nomes lembrados, meu mais sincero.

MUITO OBRIGADO!!!

RESUMO

Na cadeia epidemiológica de transmissão da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA), os caninos e os equídeos apresentam estreita associação com a doença na população humana, onde estes animais podem atuar como reservatórios de LTA, contribuindo para a manutenção da doença. Sendo assim, objetivou-se neste trabalho determinar a frequência de anticorpos anti- *Leishmania Viannia braziliensis* em caninos e equídeos em áreas de ocorrência da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) no município do Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco, além de avaliar as características clínicas dos animais com infecção natural pela *L. (V) braziliensis*. Para tanto, inicialmente foi realizada uma busca dos casos humanos no município do Cabo, nas áreas com ocorrência de LTA, a partir da coleta dos dados contidos nas fichas de investigação do Sistema de Informações de Agravos e Notificações (SINAN). Em posse das notificações, as propriedades e/ou casas foram visitadas para aplicação de um questionário investigativo para LTA. Todos os caninos e equídeos presentes foram submetidos a exames físicos e clínicos, e posterior coleta de sangue para obtenção do soro a ser utilizado na Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI). O resultado do inquérito sorológico revelou a presença de 14,11% (23/163) de caninos sororreagentes sem, entretanto, diferenças estatisticamente significantes ($\chi^2 = 2,971$). A presença de 18,27% (17/93) de equídeos sororreagentes sugere também a participação dos referidos animais domésticos no ciclo da doença no município do Cabo de Santo Agostinho, embora o real papel dessa participação necessite de estudos mais específicos. Pode-se concluir com os resultados deste trabalho que caninos com diferentes características clínicas e com presença de anticorpos anti- *L. (V) braziliensis* reforçam a necessidade de uma melhor investigação clínica e epidemiológica destes animais no município do Cabo de Santo Agostinho, com a finalidade de adoção de medidas de controle para a LTA.

Palavras-chave: Saúde Pública, Doença Parasitária, Epidemiologia, Diagnóstico.

ABSTRACT

In the epidemiological chain of transmission of American cutaneous leishmaniasis (ACL), canines and equines have close association with the disease in the human population, where these animals can act as reservoirs of ACL, contributing to the maintenance of the disease. Thus, this study aimed to determine the frequency of anti-*Leishmania Viannia braziliensis* in dogs and horses in areas where the American cutaneous leishmaniasis (ACL) in the city of Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco, and to evaluate the clinical characteristics of naturally infected by *L. (V) braziliensis*. For this purpose, initially was performed a search of the human cases in the city of Cabo, in areas with occurrence of ACL, from the collection of data in the investigation forms System Diseases Information and Notification (SINAN). In possession of the notifications, the properties and/or homes were visited for the application of an investigative questionnaire for ACL. All these dogs and horses underwent physical examinations and clinical trials and subsequent blood collection to obtain serum to be used in Immunofluorescence Assay (IFA). The results of serological survey revealed the presence of 14.11% (23/163) of seropositive dogs without, however, statistically significant ($\chi^2 2 = 2.971$). The presence of 18.27% (17/93) of seropositive horses also suggests the involvement of these domestic animals in the disease cycle in the city of Cabo de Santo Agostinho, although the real role of participation requires further studies. It can be concluded with the results of this study that dogs with different clinical characteristics and presence of antibodies to *L. (V) braziliensis* reinforce the need for better clinical and epidemiological investigation of these animals in the city of Cabo de Santo Agostinho, with the aim of adopting control measures for the ACL.

Keywords: Public Health, Parasitic Disease, Epidemiology, Diagnosis.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Frequência absoluta (FA) e relativa (FR) dos caninos com sorologia positiva para <i>L. (V) braziliensis</i> no município do Cabo de Santo Agostinho segundo a procedência dos animais	37
Tabela 2: Frequência absoluta (FA) e relativa (FR) dos caninos com sorologia positiva para <i>L. (V) braziliensis</i> no município do Cabo de Santo Agostinho segundo o sexo dos animais	38
Tabela 3: Frequência absoluta (FA) e relativa (FR) dos caninos com sorologia positiva para <i>L. (V) braziliensis</i> no município do Cabo de Santo Agostinho segundo a presença de lesão nos animais	38
Tabela 4: Frequência absoluta (FA) e relativa (FR) dos equídeos com sorologia positiva para <i>L. (V) braziliensis</i> no município do Cabo de Santo Agostinho segundo a procedência dos animais.	49
Tabela 5: Frequência absoluta (FA) relativa (FR) dos equídeos com sorologia positiva para <i>L. (V) braziliensis</i> no município do Cabo de Santo Agostinho segundo o sexo dos animais	50
Tabela 6: Frequência absoluta e relativa dos equídeos com sorologia positiva para <i>L. (V) braziliensis</i> no município do Cabo de Santo Agostinho segundo a espécie dos animais	51

LISTA DE SIGLAS

LTA: Leishmaniose Tegumentar Americana

LT: Leishmaniose Tegumentar

LTC: Leishmaniose Tegumentar Canina

LTE: Leishmaniose Tegumentar Equina

WHO: World Health Organization

OMS: Organização Mundial de Saúde

RIFI: Reação de Imunofluorescência Indireta

ELISA: Ensaio Imunoenzimático

PCR: Reação em Cadeia pela Polimerase

HE: Hematoxilina-Eosina

SINAN: Sistema de Informação de Agravos e Notificação

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

SST: Solução Salina Tamponada

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO	13
2- REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1- LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA - LTA	15
2.1.1- Agente Etiológico, Vetores e Reservatórios	15
2.1.2- Distribuição Geográfica da Leishmaniose Tegumentar Canina e Equídea	16
2.1.3- Sinais Clínicos	17
2.1.4- Diagnóstico	18
REFERÊNCIAS	19
3- OBJETIVOS	24
3.1- OBJETIVO GERAL	24
3.2- OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
CAPÍTULO 1- OCORRÊNCIA DE LEISHMANIOSE TEGUMENTAR EM CANINO (<i>Canis familiaris</i>), (LINNAEUS, 1758) PROVENIENTE DE ZONA RURAL NO MUNICÍPIO DO CABO DE SANTO AGOSTINHO, ESTADO DE PERNAMBUCO, BRASIL	26
1.1- RELATO DE CASO	28
REFERÊNCIAS	30
CAPÍTULO 2- ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E CLÍNICOS DE CÃES COM INFECÇÃO NATURAL POR <i>Leishmania (Viannia) Braziliensis</i> (VIANNIA, 1911), PROCEDENTE DO MUNICÍPIO DO CABO DE SANTO AGOSTINHO, PERNAMBUCO, BRASIL	32
2.1- INTRODUÇÃO	34
2.2- MATERIAL E MÉTODOS	35
2.2.1- Animais	35
2.2.2- Coleta do Material Destinado ao Teste Sorológico	36

2.2.3- Teste Sorológico – Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI).....	36
2.2.4- Análise Estatística.....	36
2.3- RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	37
2.4- CONCLUSÃO.....	39
REFERÊNCIAS.....	40

**CAPÍTULO 3- ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E CLÍNICOS DE EQUÍDEOS COM
INFECÇÃO NATURAL POR *Leishmania (Viannia) braziliensis* (VIANNIA, 1911),
PROCEDENTE DO MUNICÍPIO DO CABO DE SANTO AGOSTINHO,
PERNAMBUCO, BRASIL.....**

3.1- INTRODUÇÃO.....	47
3.2- MATERIAL E MÉTODOS.....	47
3.2.1- Animais.....	48
3.2.2- Coleta do Material Destinado ao Teste Sorológico.....	48
3.2.3- Teste Sorológico – Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI).....	49
3.2.4- Análise Estatística.....	49
3.3- RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	49
3.4- CONCLUSÃO.....	51
REFERÊNCIAS.....	52

4- CONSIDERAÇÕES FINAIS.....

ANEXO A – FICHA DE IDENTIFICAÇÃO CANINOS.....	56
ANEXO B – FICHA DE IDENTIFICAÇÃO EQUÍDEOS.....	58
APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	61

1- INTRODUÇÃO

A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA), causada por *Leishmania (Viannia) braziliensis*, é uma infecção de caráter zoonótico que acomete animais silvestres, e, secundariamente, os animais domésticos e o homem (CURTI et al., 2009).

Nas Américas, a LTA é considerada uma zoonose primária de mamíferos silvestres, ocorrendo desde o sul dos Estados Unidos da América ao norte da Argentina, sendo que o Brasil encontra-se entre os países com maior número de casos da doença (BASANO e CAMARGO, 2004).

Dentro da cadeia epidemiológica, o homem adquire a LTA ao invadir o ambiente silvestre onde a doença é endêmica pelas diferentes espécies de *Leishmania sp.* Sendo assim, em função da grande devastação das florestas com consequente colonização, aliada à presença de animais domésticos, particularmente cães e equídeos (YOSHIDA et al., 1990), diferentes perfis epidemiológicos periurbanos e urbanos têm sido caracterizados pela presença de casos humanos em áreas de colonizações antigas (MARZOCHI e MARZOCHI, 1994).

Rangel et al. (1990) alertaram para existência do ciclo doméstico da transmissão da LTA, sugerindo cães e equídeos como prováveis reservatórios domésticos para *L. (V) braziliensis* (SANTOS et al., 2008), além da existência de um ciclo silvestre primário (VEDOVELLO FILHO et al., 2008).

A doença canina tem sido registrada em várias regiões do Brasil, como Rio de Janeiro, São Paulo, Espírito Santo, Minas Gerais, Bahia e Amazonas (AGUILAR, et al., 1987; OLIVEIRA NETO et al., 1988; TAFURI et al., 1993; MADEIRA et al., 2003; SANTOS et al., 2004).

Relatos de infecção por *L. (V) braziliensis* em equídeos têm sido descritos nos estados do Rio de Janeiro (AGUILAR et al., 1986; AGUILAR E RANGEL, 1987; OLIVEIRA-NETO et al., 1988; BARBOSA-SANTOS, 1994), São Paulo (YOSHIDA et al., 1990) e na Bahia a soroprevalência da infecção foi de 22% (FOLLADOR, et al., 1999).

Do ponto de vista clínico, segundo Santos et al. (2008), a LTA possui evolução crônica acometendo pele e mucosas, isoladamente ou em associação, de seres humanos, caninos, felinos e equídeos.

Em função do município do Cabo de Santo Agostinho, Microrregião SUAPE do Estado de Pernambuco, ser considerada área endêmica da LTA, levando-se ainda em consideração os números de casos registrados nos últimos anos (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2005), aliado à escassez de informações que correlacionem à participação dos animais domésticos na cadeia epidemiológica dessa doença parasitária, objetivou-se neste trabalho determinar a frequência de anticorpos anti-*Leishmania (Viannia) braziliensis* em caninos e equídeos em área de ocorrência desta importante zoonose, na zona rural do município do Cabo de Santo Agostinho, Estado de Pernambuco, nordeste do Brasil, buscando esclarecer o papel destes animais na cadeia epidemiológica da doença.

2- REVISÃO DA LITERATURA

2.1- LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA - LTA

A LTA é uma infecção parasitária, com distribuição mundial (WHO, 2004), causada por protozoários do gênero *Leishmania sp.* Tem sido considerada uma dentre as seis doenças prioritárias pela Organização Mundial de Saúde (OMS, 1983) que infecta animais silvestres, animais domésticos e o homem (CURTI et al., 2009), caracterizando-se como uma zoonose (ALENCAR, 1959).

A doença se caracteriza por apresentar manifestações cutâneas que variam desde a formação de úlceras simples ou múltiplas, podendo acometer a mucosa buco-naso-faríngeo-laríngeo, causando sérios problemas mutilantes nas pessoas infectadas (FALQUETO e SESSA, 2005).

Nas Américas, a LTA é considerada uma zoonose primária de mamíferos silvestres, particularmente marsupiais, primatas, roedores, pilosos e cingulados, ocorrendo desde o sul dos Estados Unidos da América ao norte da Argentina, sendo que o Brasil encontra-se entre os países com maior número de casos da doença (BASANO e CAMARGO, 2004).

Dentro da cadeia epidemiológica, o homem adquire a LTA, invadindo o ambiente silvestre onde a doença é endêmica, pelas diferentes espécies de flebotomíneos, infectados por várias espécies de *Leishmania sp.* e, frequentemente, as pessoas envolvidas com atividades de campo representam o grupo mais acometido (OMS, 1983).

Vale salientar que a transmissão domiciliar ou peridomiciliar envolve animais domésticos, particularmente os cães e equídeos (RANGEL et al., 1990; FALQUETO e SESSA, 2005).

2.1.1- Agente Etiológico, Vetores e Reservatórios

No Brasil, a LTA está amplamente distribuída, tendo registro de casos autóctones em todos os estados da federação (BRASIL, 2000). Desse modo, a identificação das espécies de *Leishmania* em uma determinada área é muito importante, em função das diferentes formas clínicas. Segundo Gontijo e Carvalho,

(2003), nos subgêneros *Leishmania* e *Viannia* seis espécies de *Leishmania* têm sido identificadas como responsáveis pelos casos de LTA no Brasil.

- *Leishmania (Leishmania) amazonensis*: presente em todas as regiões brasileiras, tendo como reservatórios roedores e pilosos, e como vetores a *Lu. flaviscutellata* e *Lu. olmeca* (LAINSON e SHAW, 1987).
- *Leishmania (Viannia) braziliensis*: encontrada em todo território nacional, sendo a espécie mais prevalente no homem, tendo os animais domésticos como reservatórios, transmitida principalmente por flebotomíneos das espécies *Lutzomyia whitmani*, *Lu. wellcomei* e *Lu. intermedia*. (LAINSON e SHAW, 1987).
- *Leishmania (V.) guyanensis*: prevalente na região amazônica, estando sempre associada à presença de animais silvestres, particularmente roedores, cingulados e pilosos, tendo a *Lu. umbratilis*, *Lu. anduzei* e *Lu. whitmani* como principais espécies de flebotomíneos envolvidas na transmissão (LAINSON e SHAW, 1987).
- *Leishmania (V.) naiffi*: ocorre nos Estados do Pará e Amazonas, possui como reservatório animais da ordem Xenarthra, cingulados e pilosos e tem como vetores importantes a *Lu. squamiventris*, *Lu. paraensis* e *Lu. Ayrozai* (SHAW, 1999).
- *Leishmania (V.) shawi*: encontrada nos Estados do Pará e Amazonas, tendo como reservatórios animais silvestres de diferentes ordens e como vetor a *Lu. whitmani* (SHAW e LAINSON, 1975).
- *Leishmania (V.) lainsoni*: de ocorrência exclusiva na Amazônia, tendo roedores como reservatórios (SHAW e LAINSON, 1975).

2.1.2- Distribuição Geográfica da Leishmaniose Tegumentar Canina e Equídea

A leishmaniose tegumentar (LT) ocorre em quase todos os estados do Brasil. No período entre 1980 e 1991, o Ministério da Saúde registrou 22.000 casos novos da doença. A LTA encontra-se sob a forma de surtos esporádicos, nas regiões Sudeste, Centro-Oeste, Nordeste e, mais recentemente, na região Amazônica, associada ao processo predatório de colonização (MARZOCHI, 1992).

O encontro de animais domésticos como caninos e equídeos com lesões e exames sorológicos positivos para *L. (V) braziliensis* em áreas endêmicas de LTA tem sido registrado em vários focos no Brasil (MAYWALD et al., 1996; BARBOSA et al., 1999), sugerindo a participação destes animais no ciclo de transmissão da LTA na região. Sendo assim, a doença canina tem sido registrada em várias regiões do Brasil, (TAFURI et al., 1983; AGUILAR, et al., 1986; PIRMEZ et al., 1988; MADEIRA et al., 2003; SANTOS et al., 2005; MADEIRA et al., 2006; (FALQUETO et al, 1986; AFONSO-CARDOSO et al, 1989; MAYWALD et al, 1996; SILVEIRA et al., 1991; SILVEIRA et al., 1996; FOLLADOR et al., 1999; TARANTO et al., 2000; UCHÔA et al., 2001; MADEIRA et al., 2003; DOS SANTOS et al., 2005; SERRA, et al., 2003; ANDRADE et al., 2006; DUNAISKI , 2006; VELASQUEZ et al., 2006; IESBICH, 2008; MASSUNARI et al., 2009; PITTNER et al., 2009; ZANINI et al., 2010) tem sido assinalada, variando de 55% (ZANZARINI et al., 2005) até 2,16% (PEREIRA, et al., 2008).

Apesar da participação dos equídeos na cadeia epidemiológica da LTA ter sido registrada na Argentina (MAZZA, 1927) e no Brasil, a confirmação destes animais como reservatórios somente foi registrada três décadas depois (ALENCAR, 1959).

Relatos de infecção por *L. (V) braziliensis* em equídeos têm sido descritos nos estados do Rio de Janeiro, (AGUILAR e RANGEL, 1986; AGUILAR et al., 1987; OLIVEIRA-NETO et al., 1988; BARBOSA-SANTOS, 1994) e em São Paulo, (YOSHIDA et al., 1990). A soroprevalência da infecção em equídeos foi de 22%, sendo reportada no estado da Bahia (FOLLADOR, et al., 1999), 76,3% (42/55) na mesorregião do centro norte do estado do Paraná (VEDOVELLO FILHO et al., 2008) e 16% em Itambaracá, região norte do estado do Paraná (CRUZ, 2008).

2.1.3- Sinais Clínicos

Do ponto de vista clínico, a LTA possui evolução crônica e acomete pele e mucosas, isoladamente ou em associação, de seres humanos, cães, gatos e equídeos (SANTOS et al., 2008).

2.1.4- Diagnóstico

O diagnóstico da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) em animais deve ser realizado de maneira criteriosa, em virtude da inespecificidade de sinais clínicos aliada à grande porcentagem de espécies com características assintomáticas.

Existem três categorias de testes utilizados no diagnóstico da LTA: os métodos parasitológicos, onde se busca a visibilização do parasito; os métodos sorológicos, detectando-se anticorpos IgG anti-*Leishmania* sp, e métodos moleculares.

Uma forma segura de diagnóstico é a pesquisa parasitológica, que permite a identificação direta do parasito na forma amastigota, quando proveniente de lesões cutâneas (AGUILAR et al., 1984). Outros métodos que podem ser utilizados são a histopatologia em Hematoxilina Eusina (HE), o cultivo e a inoculação em animais de laboratório (SHAW e LAINSON, 1975), além dos ensaios imuno-histoquímicos (TAFURI et al., 2004). Nos casos humanos, a Intradermo Reação de Montenegro (IDRM) é utilizada com frequência, contudo com reservas, visto que os resultados podem não ser satisfatórios.

As provas sorológicas podem ser realizadas, por meio dos testes da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e Ensaio Imunoenzimático (ELISA) (AFONSO e CARDOSO, 1989). Apesar de as técnicas sorológicas apresentarem alta sensibilidade e especificidade, nem sempre um resultado soropositivo pode ser conclusivo de doença ativa (GONTIJO e CARVALHO, 2003).

Dentre os métodos moleculares, a Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) permite a amplificação do DNA do parasito. A extração do DNA pode ser realizada a partir de amostras de tecidos de pacientes humanos, caninos e equídeos, incluindo biópsia cutânea (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 1993).

REFERÊNCIAS

- ALENCAR, J.E. **Calazar canino: Contribuição para o estudo da epidemiologia do calazar no Brasil.** Fortaleza, Imprensa Oficial. Tese. Universidade Federal do Ceará, 1959.
- AGUILAR, C. M., et al. Study of an outbreak of cutaneous leishmaniasis in Venezuela. The role of domestic animals. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 79, p. 181-195, 1984.
- _____. Human, canine and equine leishmaniasis caused by *Leishmania braziliensis* in an endemic area in the State of Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 82, p.143, 1987.
- _____. Study of an outbreak of cutaneous leishmaniasis in Venezuela. The role of domestic animals. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 79, n.2, p.181-195, 1986.
- AGUILAR, C.M. e RANGEL, E.F. Leishmaniose tegumentar em uma mula (*Equus caballus*, *Equus asininus*) em áreas endêmicas no estado do Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v.81, p.239–240, 1986.
- ANDRADE, J. D., et al. Polymorphism, inter-population and inter-specific variation in *Nyssomyia intermedia* (Lutz & Neiva) and *Nyssomyia neivai* (Pinto) (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 50, p.385-393, 2006.
- AFONSO-CARDOSO, S. R., et al. Leishmaniose tegumentar canina no Município de Uberlândia, Minas Gerais diagnóstico clínico e sorológico de cães naturalmente infectados. **Revista do Centro de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia**. v. 5, p.14-21, 1989.
- BARBOSA G.M.S., et al. 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.741-646, 1999.
- BARBOSA-SANTOS, E. G., et al. Leishmaniasis disseminated by *Leishmania braziliensis* in a mare (*Equus caballus*) immunotherapy and chemotherapy assays. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.89, n.2, p. 217-220, 1994.
- BASANO, S. A.; CAMARGO, L. M. A. Leishmaniose Tegumentar Americana: histórico, epidemiologia e perspectivas de controle. **Revista Brasileira de Epidemiologia**. v.7, n. 3, p.328, 2004.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Manual de controle da leishmaniose tegumentar americana**. 5. ed. Brasília, 2000. 62p.
- CRUZ, M.F.R, **Estudo Epidemiológico da Leishmania Tegumentar Americana (LTA) no município de Itambaracá, Região Norte do Estado do Paraná, Brasil,**

em áreas de influência do complexo hidroelétrico na bacia do Rio Paranapanema, 2004 a 2006. Tese (Doutorado em Epidemiologia) Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo – FSP, USP. 2008.

CURTI, M.C.M., et al. Aspectos epidemiológicos da Leishmaniose Tegumentar Americana na região Noroeste do Estado do Paraná. **Revista de Ciências Farmacêutica e Aplicadas**. v. 30, n. 1, p.51-56, 2009.

DOS SANTOS, G.P.L., et al. Prevalência da infecção canina em áreas endêmicas de leishmaniose tegumentar americana, do município de Paracambi, Estado do Rio de Janeiro, no período entre 1992 e 1993. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.38, p.161-166, 2005.

DUNAIKI, M. **Epidemiologia da Leishmaniose tegumentar americana na região do Vale do Ribeira, Paraná: cães reservatórios ou hospedeiros acidentais?** Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba. 56 p. 2006.

FALQUETO, A., et al. Participação do cão no ciclo de transmissão da leishmaniose tegumentar no Município de Viana. Estado do Espírito Santo, Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.81, p.155-163, 1986.

FALQUETO, A.; SESSA, P. A. Leishmaniose Tegumentar Americana. **Tratado de Infectologia**, v.3, p.1545-59, Editora. Atheneu, 2005.

FOLLADOR, I., et al. Surto de leishmaniose tegumentar americana em Canoa, Santo Amaro, Bahia, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, p. 497–593, 1999.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (FNS). **Guia de Controle da Leishmaniose Tegumentar Americana**. Brasília: Ministério da Saúde, p.71, 1993.

GONTIJO, B.; CARVALHO, M.L.R. Leishmaniose tegumentar americana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v.36, n.1, p. 71-80, 2003.

IESBICH, M. M. P. **Avaliação de amostras de soro canino para leishmaniose tegumentar americana (LTA), em área de baixa endemicidade / Porto Alegre / RS, através de métodos diagnósticos laboratoriais imunológicos e biomoleculares.** Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) Universidade Federal do Rio Grande do Sul- UFRGS, 2008.

LAINSON, R.; SHAW, J.J. Evolution, classification and geographical distribution. In: **The leishmaniasis**. London, Peters W. & Killick- Kendrick R. v.1, p.1-128,1987.

MADEIRA, M. F. et al. *Leishmania (Viannia) braziliensis* in naturally infected dogs. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v.36, n. 5, p.551-555, 2003.

_____. Post mortem parasitological evaluation of dogs seroreactive for *Leishmania* from Rio de Janeiro, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 138, n. 3-4, p. 366-370, 2006.

MAZZA, S. Leishmaniasis cutanea en el caballo y nueva observación de la misma em el perro. **Boletín del Instituto Clínico Quirúrgico**. v. 3, p. 462-464, 1927.

MARZOCHI, M.C. Leishmanioses no Brasil: as leishmanioses tegumentares. **Jornal Brasileiro de Medicina**. v. 63, p. 82-104, 1992.

MARZOCHI, K.B.F. & MARZOCHI, M.C.A. Tegumentary and visceral leishmaniasis in Brazil- Emerging anthroozoonosis and possibilities for their control. **Cadernos de Saúde Pública**, v.10, p.359-375, 1994.

MASSUNARI, G. K. et al. A serological and molecular investigation of american cutaneous leishmaniasis in dogs, three years after an outbreak in the Northwest of Paraná State, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 25, n. 1, p. 97-104, 2009.

MAYWALD, P.G. et al Leishmaniose tegumentar, visceral e doença de Chagas caninas em municípios do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, Minas Gerais, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**. v.12, n.3, p. 321-328, 1996.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de Controle da Leishmaniose Tegumentar Americana**, Centro Nacional de Epidemiologia, Fundação Nacional de Saúde, Brasília, 2000.

OLIVEIRA-NETO, M. P., et al. An outbreak of American cutaneous leishmaniasis (*Leishmania braziliensis*) in a periurban area of Rio de Janeiro city, Brazil: clinical and epidemiological studies. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 83, p. 427–435, 1988.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS); ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE (OPAS). **Controle das doenças transmissíveis no homem**. Relatório oficial da Associação Americana de Saúde Publica, v. 13, n. 442, p. 420, 1983.

PEREIRA M. A. V. C. et al. Diagnóstico sorológico pelo método de imunofluorescência indireta (IFI) para detecção de anticorpos anti-*leishmania sp.*, em cães errantes do município de Campos dos Goytacazes, Estado do Rio de Janeiro, no período de 2000 a 2001, após surgimento de caso humano autóctone. **ARS VETERINÁRIA**, Jaboticabal, SP, v.24, n.3, 177-180, 2008.

PIRMEZ, C., et al. Canine american cutaneous leishmaniasis: A clinical and imunological study in dogs naturally infected with *Leishmania braziliensis braziliensis* in an endemic area of Rio de Janeiro, Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 38, p.52-58, 1998.

PITTNER, E., et al. Ocorrência de leishmaniose tegumentar em cães de área endêmica no Estado do Paraná. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.3, p.561-565, 2009.

RANGEL, E. F., et al. Studies on sandfly fauna (Diptera: Psychodidae) in a focus of Cutaneous Leishmaniasis in Mesquita, Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 85, p. 39-45, 1990.

ROSA, A.C et al., Predominance of *Leishmania brasiliensis brasiliensis* in the region of Três Braços and Corte de Pedra, Bahia, Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 82, p. 409-10, 1988.

SANTOS, R.V.; COIMBRA J.R.C.E.A. **Saúde e Povos Indígenas**. Rio de Janeiro: Ed. FIOCRUZ; 1994.

SANTOS, I. B. dos. et al. Leishmaniose tegumentar americana canina no Rio de Janeiro – revisão. **Revista da Universidade Rural**. Série Ciências da Vida, Seropédica, RJ: EDUR, v. 28 n 1, p. 27-38, jan-jun, 2008.

SANTOS, P.L., et al. Prevalência da infecção canina em áreas endêmicas de leishmaniose tegumentar americana, do município de Paracambi, Estado do Rio de Janeiro, no período entre 1992 e 1993. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.38, n.2, p. 161-166, 2005.

SERRA, C.M.B., et al. Leishmaniose tegumentar canina em Morada das Águias (Serra da Titirica), Maricá, Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v.19, p.1877, 2003.

SILVEIRA, T.G.V., et al. Investigação sorológica em cães de área endêmica de leishmaniose tegumentar, no Estado do Paraná, Sul do Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v.12, p.89-93, 1996.

SILVEIRA, F.T., et al. Cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania (Leishmania) amazonensis* in Amazonian Brazil, and the significance of a negative Montenegro skin-test in human infections. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.85, p. 735-738, 1991.

SHAW, J.J.; LAINSON, R. Leishmaniasis in Brazil: Some observations on intradermal reactions to different trypanosomatid antigens of patients suffering from cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 69, p.323-335, 1975.

SHAW, J.J. The relationship of sand fly ecology to the transmission of leishmaniasis in South America with particular reference to Brasil. In: **Memoirs on Entomology**, JFB.(eds). Associated Publishers, 1999.

TAFURI, W.L., et al. Comparative histopathologic study of the skin test in dogs from an endemic area of tegumentary leishmaniasis, using 2 antigens: Leishvacin and P10.000G. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v.26, p.11-41, 1983.

TAFURI W. L et al. An alternative imunohistochemical method method for detecting *Leishmania amastigotes* in paraffin-embedded canine tissues. **Journal of Immunological Methods**, v.292, p. 17-23, 2004.

TARANTO, N. J., et al. Parasitosis zoonoticas transmitidas por perros en el Chaco Salteño. **Medicina** (Buenos Aires), v. 60, p.217-220, 2000.

UCHÔA C.M., et al. Aspectos sorológicos e epidemiológicos da leishmaniose tegumentar americana canina em Maricá, Rio de Janeiro, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, p.563-68, 2001.

VEDOVELLO FILHO, D., et al. American Cutaneous Leishmaniasis in Horses from Endemic Areas in the North-Central Mesoregion of Paraná State, Brazil. **Zoonosis and Public Health**. v.55, p.149–155, 2008.

VELÁSQUEZ, L.G., et al. PCR in the investigation of canine American tegumentary leishmaniasis in northwestern Paraná State, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v.22, p.571-578, 2006.

WHO (World Health Organization). Report on Global Surveillance of Epidemic-prone Infectious Diseases, **Division of Control of Tropical Diseases**, 2004.

YOSHIDA, E.L., et al. Human, canine and equine (*Equus caballus*) leishmaniasis due to *Leishmania braziliensis* (*L. braziliensis braziliensis*) in the south-west region of São Paulo State, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v.85, n. 1, p.133-134, 1990.

ZANZARINI, P. D. et al. Canine American Cutaneous Leishmaniasis in municipalities of northern Paraná State, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**. v.21, n. 6, 1957-1961p., 2005.

ZANINI, M. S., et al. *Leishmania (Viannia) braziliensis*: Immunoblotting analysis for the detection of IgG subclasses in the diagnosis of symptomatic and asymptomatic dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 173, n. 1-2, p. 143-146, 2010.

3- OBJETIVOS

3.1- OBJETIVO GERAL

Avaliar os aspectos epidemiológicos e clínicos da Leishmaniose Tegumentar (LT) em cães e equídeos no município do Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco, Brasil.

3.2- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar a frequência da LTA em cães e equídeos no município do Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco, Brasil;
- Verificar a ocorrência da LTA em caninos e equídeos provenientes do município do Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco, Brasil;
- Avaliar as características clínicas de cães com infecção natural por *Leishmania (Viannia) brasiliensis* no município de Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco, Brasil;
- Avaliar as características clínicas de equídeos com infecção natural por *Leishmania (Viannia) brasiliensis* no município do Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco, Brasil.

CAPÍTULO 1

RELATO DE CASO

Ocorrência de Leishmaniose Tegumentar em Canino (*Canis familiaris*), (LINNAEUS, 1758) Proveniente de Zona Rural no Município do Cabo de Santo Agostinho, Estado de Pernambuco, Brasil

CAPÍTULO 1
RELATO DE CASO
OCORRÊNCIA DE LEISHMANIOSE TEGUMENTAR EM CANINO (*Canis familiaris*), (LINNAEUS, 1758) PROVENIENTE DE ZONA RURAL NO MUNICÍPIO DO CABO DE SANTO AGOSTINHO, ESTADO DE PERNAMBUCO, BRASIL

(Occurrence of Cutaneous Leishmaniasis in dog (*Canis familiaris*), (LINNAEUS, 1758) from the Rural Area in the City of Cabo de Santo Agostinho, State of Pernambuco, Brazil)

RESUMO

Considerando que a região estudada apresenta-se como área endêmica para a LTA, com a ocorrência de casos em humanos, objetivou-se neste trabalho registrar a presença de leishmaniose tegumentar em um cão proveniente da zona rural do município do Cabo de Santo Agostinho, Estado de Pernambuco. O animal apresentava lesão ulcerada no focinho e sorologia positiva para *L.(V) braziliensis*, contudo não foram encontradas formas amastigotas de *Leishmania sp.* O encontro de animal com lesões e com sorologia positiva para *L.(V) braziliensis* em áreas endêmicas de LTA sugere a provável participação deste animal no ciclo de transmissão da LTA na região.

Palavras-chave: Leishmaniose Cutânea, Zoonose, Dermatologia Veterinária.

ABSTRACT

Whereas this region appears as an endemic area for ACL, with the occurrence of human cases, the objective of this work was to register the presence of cutaneous leishmaniasis in a dog from the rural area of the municipality of Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco State. The animal showed an ulcerated lesion on the muzzle and positive serology for L. (V) *braziliensis*, but there were no amastigotes of *Leishmania* sp. The finding of animal injuries and were seropositive for L. (V) *braziliensis* in endemic areas of ACL suggests the likely involvement of this animal in the transmission cycle of ACL in the region.

Keywords: Cutaneous leishmaniasis, Zoonosis, Veterinary Dermatology.

1.1- RELATO DE CASO

A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) é uma enfermidade parasitária que vem sendo registrada em todos os Estados da Federação do Brasil (ZANZARINI et al., 2005), com presença de surtos epidêmicos nas regiões Sudeste, Centro Oeste, Nordeste e, mais recentemente, na região Amazônica, relacionados ao processo predatório de colonização (MARZOCHI, 1992; DORVAL et al., 2006).

Com relação à doença cutânea, até o momento, seis espécies de *Leishmania*, pertencentes aos subgêneros *Leishmania* e *Viannia*, foram identificadas no Brasil, sendo a *Leishmania (Viannia) braziliensis* a espécie mais prevalente no homem, estando geralmente associada à presença de animais domésticos (SESSA et al., 1994; LAINSON, 1997).

Apesar de a infecção humana ter sido identificada em todas as regiões do Brasil (DORVAL et al. 2006), poucos são os registros sobre a infecção na espécie canina. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi relatar a presença de Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) em um canino proveniente do município do Cabo de Santo Agostinho, Estado de Pernambuco.

No período de março a dezembro de 2009, foi realizada busca ativa de casos da LTA no município do Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco, ocasião na qual foi identificado um cão macho, de porte médio, com idade aproximada de três anos, sem raça definida, com extensa área de ulceração no focinho, lesão esta sugestiva de Leishmaniose Tegumentar (LTA).

Em virtude de a área de estudo ser uma área endêmica para esta doença, realizou-se a coleta de sangue por punção da veia cefálica para obtenção do soro e biópsia da borda da lesão, sendo o fragmento obtido acondicionado em recipiente de vidro contendo solução tamponada de formalina a 10%. Para realização do teste sorológico, o antígeno foi preparado a partir de formas promastigotas de *L. (V.) braziliensis* (Bio-Manguinhos/Fundação Oswaldo Cruz, RJ). A Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) foi realizada conforme descrita por Guimarães et al. (1974), e o título igual ou superior a 40 foi considerado positivo (MARZOCHI et al., 1988).

Para pesquisa de formas amastigotas de *Leishmania sp*, os fragmentos foram processados de acordo com as técnicas de inclusão em parafina e corados com a Hematoxilina-Eosina (H.E.).

As alterações dermatológicas observadas no animal localizavam-se no focinho e apresentavam um aspecto ulcerado compatível com as características descritas para as lesões causadas por parasitos pertencentes ao complexo *Leishmania braziliensis* (MADEIRA et al, 2003, ZANZARINI et al., 2005, SANTOS et al. 2005, VELASQUEZ et al, 2006). O resultado da RIFI revelou a presença de anticorpos anti-*L. (V) braziliensis*, sendo considerado positivo (título 1/40). Entretanto, não foi possível evidenciar formas amastigota de *Leishmania spp* no exame histopatológico.

O encontro de animais com lesões e com sorologia positiva para *L. (V) braziliensis* em áreas endêmicas de LTA tem sido registrado em vários focos no Brasil (MAYWALD et al. 1996, BARBOSA et al. 1999), o que sugere a participação destes animais no ciclo de transmissão da LTA na região.

REFERÊNCIAS

- BARBOSA, G.M.S. et al. 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.741-646, 1999.
- DORVAL, M. E. M., et al. Ocorrência de leishmaniose tegumentar americana no Estado do Mato Grosso do Sul associada à infecção por *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v.39, n.1, p.43-46, 2006.
- GUIMARÃES, M.C.S., et al. Antigenic standardization from mucocutaneous leishmaniasis immunofluorescence test. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 16, p.145-148, 1974.
- LAINSON, R. Leishmânia e leishmaniose, com particular referência à região Amazônica do Brasil. **Revista Paraense de Medicina**. v. 11, n.1, p. 29-40, 1997.
- MADEIRA, M. F., et al. *Leishmania (Viannia) braziliensis* em cães naturalmente infectados. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 36, n.5, p.551-555, 2003.
- MARZOCHI, M.C.A; BARBOSA-SANTOS, E.G.O. Evaluation of skin test in the canine mucocutaneous leishmaniasis diagnosis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 83, p.391-392, 1988.
- MARZOCHI, M.C.A. Leishmaniose no Brasil: as leishmanioses tegumentares. **Journal Brasileiro de Medicina**. v. 63, p. 82-104, 1992.
- MAYWALD, P.G. et al Leishmaniose tegumentar, visceral e doença de Chagas caninas em municípios do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, Minas Gerais, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**. v. 12, n.3, p. 321-328, 1996.
- SANTOS, P.L., et al. Prevalência da infecção canina em áreas endêmicas de leishmaniose tegumentar americana, do município de Paracambi, Estado do Rio de Janeiro, no período entre 1992 e 1993. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 38, n.2, p. 161-166, 2005.
- SESSA, P.A. et al. Tentativa de controle da Leishmaniose Tegumentar Americana por meio do tratamento dos cães doentes. **Cadernos de Saúde Pública**. v. 10, n.4, p:457-463, 1994.
- VELÁSQUEZ, L.G., et al. PCR in the investigation of canine American tegumentary leishmaniasis in northwestern Paraná State, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v.22, p.571-578, 2006.
- ZANZARINI, P.D. et al. Leishmaniose tegumentar americana canina em municípios do norte do Estado do Paraná, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**. v.21, n.6, p. 1957-1961, 2005.

CAPÍTULO 2

Aspectos Epidemiológicos e Clínicos de Cães com Infecção Natural por *Leishmania (Viannia) Braziliensis* (VIANNA, 1911), Procedentes do Município do Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco, Brasil

CAPÍTULO 2
ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E CLÍNICOS DE CÃES COM INFECÇÃO
NATURAL POR *Leishmania (Viannia) braziliensis* (VIANNIA, 1911),
PROCEDENTE DO MUNICÍPIO DO CABO DE SANTO AGOSTINHO,
PERNAMBUCO, BRASIL

(Clinical and Epidemiological Aspects of dogs naturally infected with *Leishmania (Viannia) braziliensis* (VIANNA, 1911) from the municipality of Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco, Brazil)

RESUMO

A leishmaniose tegumentar canina (LTC) é uma importante doença com repercussão para saúde pública. A doença vem atingindo muitos estados brasileiros, onde os cães podem apresentar uma grande variedade de sinais clínicos. Objetivou-se no presente trabalho determinar a frequência de LTC no município do Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco, além de avaliar o quadro clínico característico de cães com infecção natural por *Leishmania (Viannia) braziliensis*. Dentre os 163 caninos estudados, 14,11% (23/163) foram positivos à reação de imunofluorescência indireta. Dos animais sororagentes, 6,75% (5/11) tinham apresentado alterações na superfície da pele. Pode-se concluir que em função de diferentes formas clínicas de apresentação da doença e a presença de anticorpos IgG anti-*Leishmania (V) braziliensis*, reforça-se a necessidade de uma melhor avaliação clínica destes animais no Cabo de Santo Agostinho, como medida auxiliar de controle da Leishmaniose Tegumentar Americana.

Palavras-chave: Sorologia, Medicina Canina, Leishmaniose Cutânea.

ABSTRACT

Canine cutaneous leishmaniasis (CCL) is a disease with important repercussions for public health. The disease has reached many Brazilian states, where dogs can present a wide variety of clinical symptoms. The aim of this paper was to determine the frequency of CCL in the municipality of Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco, and to evaluate the clinical picture of dogs naturally infected with *Leishmania (Viannia) braziliensis*. Among the 163 dogs studied, 14.11% (23/163) had positive reaction to the reaction of indirect immunofluorescence. Of these, 6.75% (5 / 11) had made changes to the skin surface. It can be concluded that due to different clinical forms of the disease and the presence of anti-*Leishmania (V) braziliensis*, it reinforces the need for better clinical evaluation of these animals in Cabo de Santo Agostinho, in order to Control the Cutaneous Leishmaniasis.

Keywords: Serology, Canine Medicine, Cutaneous Leishmaniasis.

2.1- INTRODUÇÃO

Originalmente zoonose de ecótopos silvestres, a Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) vem ocorrendo em áreas rurais e urbanas, particularmente em locais onde ocorre o desmatamento e as modificações antrópicas, constituindo um problema de saúde pública (MARZOCHI e MARZOCHI, 1994).

Apesar de a LTA envolver uma grande variedade de mamíferos silvestres como reservatórios da infecção, nos últimos anos a doença tem ocorrido em forma de microepidemias em diversas regiões do Brasil, tendo no seu ciclo de transmissão a participação dos animais domésticos (MARZOCHI e MARZOCHI, 1994), particularmente os cães (SANGIONI, 2007).

A doença canina tem sido registrada em várias regiões do Brasil, como Rio de Janeiro, São Paulo, Espírito Santo, Minas Gerais, Bahia e Amazonas (AGUILAR, et al., 1987, PIRMEZ et al., 1988, TAFURI et al., 1993, MADEIRA et al., 2003, SANTOS et al., 2005, MADEIRA et al., 2006).

As alterações dermatológicas sugestivas de LTA em cães localizam-se nas orelhas, na bolsa escrotal e no focinho, sendo, na maior parte, lesões únicas, ulceradas ou úlcero-crostosas e de evolução crônica (MADEIRA et al., 2003)

Em função do município do Cabo de Santo Agostinho, Microrregião Suape do Estado de Pernambuco, registrar a constância do número de casos de LTA em humanos, com uma média anual de 384 novos casos no período de 2000 a 2009 (SINAN, MS), ficando muito próximos dos dados registrados nas demais regiões endêmicas do estado, com o surgimento em média de 245 novos casos no período de 1985 a 2005 (BRASIL, 2007), aliado à falta de informações que correlacionem à participação dos animais domésticos na cadeia epidemiológica da *L. (V) braziliensis*, objetivou-se neste trabalho determinar a frequência da Leishmaniose Tegumentar Canina (LTC) no município do Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco, além de avaliar as características clínicas e epidemiológicas de cães com infecção natural por *Leishmania (Viannia) braziliensis*.

2.2- MATERIAL E MÉTODOS

No período de março a dezembro de 2009, foi realizado um inquérito soro-epidemiológico da LTC em caninos no município do Cabo de Santo Agostinho (8°20'57 "S e 34°56'49" O), Mesorregião Metropolitana do Recife, Microrregião de Suape do Estado de Pernambuco, altitude de 29 metros, e uma população estimada de 185.123 habitantes (IBGE, 2010), com área de 448 km², distando 33 km da capital, apresentando um relevo formado por mar de morros que antecedem o planalto da Borborema, com uma rica bacia hidrográfica onde se destacam os rios Pirapama e Jaboatão, cortando o município. O clima característico é o tropical quente úmido. Na zona rural, predominam restos de vegetação nativa do tipo capoeira, capoeirinha, vegetação arbustiva, coqueiral, canavial e manguezal. A economia do município é baseada em atividades de agricultura, indústria, comércio, turismo e prestação de serviços (PREFEITURA DO CABO DE SANTO AGOSTINHO, 2009).

2.2.1- Animais

Inicialmente, foi realizado um estudo transversal retrospectivo dos casos humanos com os dados coletados das fichas de investigação do Sistema de Informações de Agravos e Notificações (SINAN, MS), fornecidos pela Gerência de Vigilância Ambiental em Saúde da Secretaria Estadual de Saúde de Pernambuco.

Quando da busca ativa domiciliar dos casos humanos registrados, foi realizada a procura dos cães nas residências visitadas. Uma vez presente, o proprietário concordou na participação do animal no estudo por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, sendo então o animal registrado em ficha clínica individual, com informações referentes ao nome, sexo, além de dados clínicos e epidemiológicos. O exame físico consistiu principalmente da inspeção da pele, onde foi observada a existência ou não de sinais clínicos sugestivos de LTC.

2.2.2- Coleta do Material Destinado ao Teste Sorológico

Foram colhidos, aproximadamente, cinco mililitros (ml) de sangue dos caninos, por meio de venopunção das veias cefálica ou safena externa, com seringas¹ e agulhas descartáveis², sendo posteriormente acondicionados em tubos de ensaio estéreis³, com e sem anticoagulante, submetidos à centrifugação a 5.000 rotações por minuto (rpm) para obtenção do plasma e do soro, respectivamente, os quais foram armazenados em tubos de polipropileno⁴ a – 20°C até a realização do exame sorológico.

2.2.3- Teste Sorológico – Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)

O antígeno foi preparado a partir de formas promastigotas de *L. (V) braziliensis* gentilmente cedidos por Bio-Manguinhos/Fundação Oswaldo Cruz, RJ. A RIFI foi realizada conforme descrita por Guimarães et al. (1974). Inicialmente, foi realizada uma reação qualitativa com os soros diluídos a 1/20 em Solução Salina Tamponada (SST). Os soros positivos nesta reação foram, então, diluídos a partir desta diluição em SST, em razão dois, para a determinação do título final. Títulos iguais ou superiores a 40 foram considerados positivos (MARZOCHI et al., 1985).

2.2.4- Análise Estatística

Para verificar a associação entre as variáveis categóricas e a positividade da infecção, foi utilizado o teste de Independência de Qui-quadrado e o teste exato de Fisher. O software utilizado para análise dos dados foi o BioEstat 5.0.

¹Seringa descartável 5 mL BD plastipak

²Agulha descartável 25x07 BD plastipak

³Tubos de ensaio de vidro estéreis

⁴Microtubos de polipropileno

2.3- RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os dados referentes à frequência de animais sororreagentes encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1: Frequência absoluta (FA) e relativa (FR) dos caninos com sorologia positiva para *L. (V) braziliensis* no município do Cabo de Santo Agostinho segundo a procedência dos animais

Variável	Grupo				Total	%	p-valor
	Positivos		Negativos				
	FA	FR %	FA	FR %			
Procedência							
Engenho Bom Tom	0	0	07	100	07	4,29	0,704
Engenho Mupam	02	22,22	07	77,78	09	5,52	
Engenho Arariba de Baixo	14	15,73	75	84,27	89	54,60	
Engenho Arariba de Meio	01	5,88	16	94,12	17	10,43	
Engenho Arariba de Cima	0	0	01	100	01	0,61	
Pontezinha	06	15,00	34	85,00	40	24,53	
TOTAL	23	14,11	140	85,89	163	100	

*p-valor do teste de independência (se p-valor < 0,05, as variáveis são independentes)

O teste sorológico revelou a presença de 14,11% (23/163) animais sororreagentes, sem, entretanto, diferenças estatisticamente significantes ($\chi^2 = 2,971$), com relação à Tabela 1.

O resultado referente à frequência de anticorpos anti-a *L. (V) braziliensis* aqui encontrado foi superior àqueles relatados por Maywald et al. (1996), Follador et al. (1999) e Figueiredo et al. (2009), que observaram taxas de prevalência inferior a 10% nos municípios de Uberlândia, MG, Canoa, Santo Amaro, BA, Porto Alegre, RS, Campos dos Goytacazes, Barra Mansa e Rio de Janeiro, RJ, porém inferiores a todos os outros dados relacionados à prevalência da LTC no Brasil (SANTOS et al., 2008; AFONSO-CARDOSO et al., 1989; SILVEIRA et al., 1996; UCHÔA et al., 2001; SERRA et al., 2003; DOS SANTOS et al., 2005; ZANZARINI et al., 2005; VELASQUEZ et al., 2006; ANDRADE et al., 2006; DUNAISKI, 2006; IESBICH, 2008; PITTNER et al., 2009; MASSUNARI et al., 2009; ZANINI et al., 2010).

Vale salientar que apesar dos reservatórios primários da LTA serem os animais silvestres (LONARDONI et al., 2006), em função da ocorrência da LTA no município do Cabo de Santo Agostinho, PE, a presença de animais sororreagentes mesmo aparentemente sadios no peri ou intradomicílio sugeriu a participação do cão

como reservatório secundário da doença, elo na cadeia de transmissão humana ou fonte de alimentação para o inseto vetor (DIAS et al., 1977; COUTINHO et al., 1985; FALQUETO et al., 1986).

Contudo, a diferença entre as prevalências pode ser devida principalmente ao estágio da infecção, ao número de amostras, natureza do antígeno e a sensibilidade e especificidade do teste sorológico empregado.

Com relação ao sexo, apesar do número de machos infectados (15,18%) terem sido maior que o de fêmeas (11,76%), a análise estatística (Tabela 2) não revelou diferença estatisticamente significativa ($\chi^2 = 0,337$).

Tabela 2: Frequência absoluta (FA) e relativa (FR) dos caninos com sorologia positiva para *L. (V) braziliensis* no município do Cabo de Santo Agostinho segundo o sexo dos animais

Variável	Grupo				Total	%	p-valor
	Positivos		Negativos				
	FA	FR %	FA	FR %			
Fêmeas	06	11,76	45	88,23	51	31,29	0,740
Machos	17	15,18	95	84,82	112	68,71	
TOTAL	23	14,11	140	85,89	163	100	

Em relação aos cães examinados (Tabela 3), 11,76% (06/08) apresentaram lesões sugestivas de LTC, dentre elas dermatopatias nas orelhas e focinho, na sua maioria caracterizada pela presença de úlceras.

Tabela 3: Frequência absoluta (FA) e relativa (FR) dos caninos com sorologia positiva para *L. (V) braziliensis* no município do Cabo de Santo Agostinho segundo a presença de lesão nos animais

Variável	Grupo				Total	%	p-valor
	Positivos		Negativos				
	FA	FR %	FA	FR %			
Com lesão	05	45,46	06	54,54	11	6,75	0,0094
Sem lesão	18	11,84	134	88,16	152	93,25	
TOTAL	23	14,11	140	85,89	163	100	

Os dados aqui observados quanto à presença de lesões foram inferiores àqueles apresentados por Falqueto et al. (1986), Silveira et al. (1996), Zanzarini et al. (2005) e Velasquez et al. (2006), que registraram diferentes índices de lesões em cães com LTC em diversas regiões brasileiras. Contudo a análise das variáveis

revelou existir diferença significativa entre as frequências de soropositivos com relação à ausência ou presença de lesões.

Este resultado é de extrema importância em função de que cães aparentemente saudáveis podem servir como fonte de infecção para o inseto vetor e reservatório secundário (METTLER, 2005; ZANZARINI et al., 2005; SANGIONI, 2007).

Por outro lado, a presença de lesão mucocutânea/cicatriz, úlceras nas orelhas, na bolsa escrotal e no focinho de cães (MAYWALD et al., 1996; MADEIRA et al., 2003; DOS SANTOS et al., 2005) em áreas endêmicas de LTA pode ser sugestiva de leishmaniose tegumentar canina (LTC), sendo necessário o acompanhamento periódico destes animais com o objetivo de confirmar o diagnóstico da LTC (ZANZARINI et al., 2005).

2.4- CONCLUSÃO

A presença de animais com diferentes características clínicas e com presença de anticorpos anti- *L. (V) braziliensis* reforçam a necessidade de uma melhor avaliação clínica dos cães no município do Cabo de Santo Agostinho, com a finalidade de adoção de medidas de controle para a LTC.

REFERÊNCIAS

AFONSO-CARDOSO, S. R., et al. Leishmaniose tegumentar canina no Município de Uberlândia, Minas Gerais diagnóstico clínico e sorológico de cães naturalmente infectados. **Revista do Centro de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia**. v. 5, p.14-21, 1989.

AGUILAR, C.M. et al. Human canine and equine leishmaniasis caused by *Leishmania braziliensis braziliensis* in an endemic area in the State of Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.82, n.1, p. 143, 1987.

BASANO, S. A.; CAMARGO, L. M. A. Leishmaniose tegumentar americana: histórico, epidemiologia e perspectivas de controle. **Revista Brasileira de Epidemiologia**. v.7, n. 3, p.328, 2004.

COUTINHO, S. G., et al A survey for american cutaneous and visceral leishmaniasis among 1342 dogs from areas in Rio de Janeiro (Brazil) where the human diseases occur. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v.80, p.17-22, 1985.

DOS SANTOS, G.P.L. et al. Prevalência da infecção canina em áreas endêmicas de leishmaniose tegumentar americana, do município de Paracambi, Estado do Rio de Janeiro, no período entre 1992 e 1993. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v.38, n.2, p. 161-166, 2005.

DIAS, M., et al. Epidemiologia da leishmaniose tegumentar americana. I-Estudo de reervatórios em área endêmica no Estado de Minas Gerais. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.19, p.403-410, 1977.

DUNAISKI, M. **Epidemiologia da Leishmaniose tegumentar americana na região do Vale do Ribeira, Paraná: cães reservatórios ou hospedeiros acidentais? Dissertação** (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba. 56 p. 2006.

FALQUETO, A., et al. Participação do cão no ciclo de transmissão da leishmaniose tegumentar no município de Viana, Estado do Espírito Santo, Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v.81, p.155-163, 1986.

FIGUEIREDO, et al. Avaliação sorológica para detecção de anticorpos anti-*Leishmania* em cães e gatos no bairro de Santa Rita de Cássia, Município de Barra Mansa, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** , 42(2):141-145, mar-abr, 2009

FOLLADOR, I.,et al. Surto de leishmaniose tegumentar americana em Canoa, Santo Amaro, Bahia, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, p. 497–593, 1999.

BRASIL. **Ministério da Saúde**. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana / Ministério da Saúde, Secretaria

de Vigilância em Saúde. – 2. ed. atual. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2007.

GONTIJO, B.; CARVALHO, M.L.R. Leishmaniose tegumentar americana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v.36, n.1, p. 71-80, 2003.

GUIMARÃES, M.C.S., et al. Antigenic standardization from mucocutaneous leishmaniasis immunofluorescence test. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 16, p.145-148, 1974.

IESBICH, M. M. P. **Avaliação de amostras de soro canino para leishmaniose tegumentar americana (LTA), em área de baixa endemicidade / Porto Alegre / RS, através de métodos diagnósticos laboratoriais imunológicos e biomoleculares**. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) Universidade Federal do Rio Grande do Sul- UFRGS, 2008.

LONARDONI, et al., Comparação entre imunofluorescência indireta e aglutinação direta para o diagnóstico sorológico da leishmaniose tegumentar americana em cães errantes. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, v.58, n.6, p.1001-1008, 2006

MADEIRA, M. F., et al. *Leishmania (Viannia) braziliensis* in naturally infected dogs. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v.36, n. 5, p.551-555, 2003.

_____. Post mortem parasitological evaluation of dogs seroreactive for *Leishmania* from Rio de Janeiro, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 138, n. 3-4, p. 366-370, 2006.

MARZOCHI, K.B.F.; MARZOCHI, M.C.A. Tegumentary and visceral leishmaniasis in Brazil- Emerging anthroozoonosis and possibilities for their control. **Cadernos de Saúde Pública**, v.10, p.359-375, 1994 .

MARZOCHI, M.C.A. Leishmanioses no Brasil: as leishmanioses tegumentares. **Jornal Brasileiro de Medicina**. v. 63, p. 82-104, 1992.

_____. et al. Leishmaniose visceral canina no Rio de Janeiro – Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**. v. 1, p. 432, 1985.

MASSUNARI, G. K. et al. A Serological and Molecular investigation of American cutaneous leishmaniasis in dogs, three years after an outbreak in the northwest of Paraná State. **Cadernos de Saúde Pública**. v.25, n.1, p.97-104, 2009.

MAYWALD, P.G. et al Leishmaniose tegumentar, visceral e doença de Chagas caninas em municípios do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, Minas Gerais, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**. v.12, n.3, p. 321-328, 1996.

OLIVEIRA-NETO, M. P., et al. An outbreak of American cutaneous leishmaniasis (*Leishmania braziliensis*) in a periurban area of Rio de Janeiro city, Brazil: clinical

and epidemiological studies. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.** v. 83, p. 427–435, 1988.

PREFEITURA DO CABO DE SANTO AGOSTINHO. Disponível em: <http://www.cabo.pe.gov.br/localizacao.asp> acessado em 29/05/2009.

PIRMEZ, C., et al. Canine american cutaneous leishmaniasis: A clinical and imunological study in dogs naturally infected with *Leishmania braziliensis braziliensis* in an endemic area of Rio de Janeiro, Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.** v. 38, p.52-58,1998a.

PITTNER, E. et al. Ocorrência de leishmaniose tegumentar em cães de área endêmica no Estado do Paraná. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia.** v.61, n.3, p.561-565, 2009.

SANGIONI, L.A. et al. Busca ativa de casos de leishmaniose cutânea em humanos e cães em área periférica do município de Campo Mourão - PR, Brasil. **Ciência Rural.** v. 37, n. 5, p. 1492-1494, 2007.

SANTOS, .P.L., et al. Prevalência da infecção canina em áreas endêmicas de leishmaniose tegumentar americana, do município de Paracambi, Estado do Rio de Janeiro, no período entre 1992 e 1993. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.** v.38, n.2, p. 161-166, 2005.

SANTOS, I. B. et al. Leishmaniose tegumentar americana canina no rio de janeiro – revisão. **Revista da Universidade Rural.** Série Ciências da Vida, Seropédica, RJ: EDUR, v. 28, n 1, p. 27-38, 2008.

SERRA, C.M.B. et al. Leishmaniose tegumentar canina em Morada das Águias (Serra da Tiririca), Maricá, Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública.** v. 19, n.6, p. 1877-1880, 2003.

SILVEIRA, T.G.V., et al. Investigação sorológica em cães de área endêmica de leishmaniose tegumentar, no Estado do Paraná, Sul do Brasil. **Cadernos de Saúde Pública,** v.12, p.89-93, 1996.

TAFURI, W.L., et al. Comparative histopathologic study of the skin test in dogs from an endemic area of tegumentary leishmaniasis, using 2 antigens: Leishvacin and P10.000G. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.** v.26, p.11-41, 1993.

VEDOVELLO FILHO, D., et al. American Cutaneous Leishmaniasis in Horses from Endemic Areas in the North-Central Mesoregion of Paraná State, Brazil. **Zoonoses and Public Health.** v.55, p.149–155, 2008.

VELÁSQUEZ, L.G., et al. PCR in the investigation of canine American tegumentary leishmaniasis in northwestern Paraná State, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública,** v.22, p.571-578, 2006.

ZANZARINI, P. D. et al. Canine American Cutaneous Leishmaniasis in municipalities of northern Paraná State, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**. v.21, n. 6, 1957-1961p., 2005.

ZANINI, M. S., et al. *Leishmania (Viannia) braziliensis*: Immunoblotting analysis for the detection of IgG subclasses in the diagnosis of symptomatic and asymptomatic dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 173, n. 1-2, p. 143-146, 2010.

CAPÍTULO 3

Aspectos Epidemiológicos e Clínicos de Equídeos com Infecção Natural por *Leishmania (Viannia) braziliensis* (VIANNA, 1911), Procedentes do Município do Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco, Brasil

CAPÍTULO 3
ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E CLÍNICOS DE EQUÍDEOS COM INFECÇÃO
NATURAL POR *Leishmania (Viannia) braziliensis* (VIANNA, 1911),
PROCEDENTE DO MUNICÍPIO DO CABO DE SANTO AGOSTINHO,
PERNAMBUCO, BRASIL

(Clinical and Epidemiological Aspects of horses naturally infected with *Leishmania (Viannia) braziliensis* (VIANNA, 1911) from the municipality of Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco, Brazil)

RESUMO

A Leishmaniose Tegumentar Equina (LTE) é uma doença com importante repercussão para saúde pública. A enfermidade vem se apresentando em expansão e atingindo diferentes estados brasileiros, onde equídeos infectados podem apresentar diferentes formas clínicas e servirem como reservatórios para outros animais e também para o ser humano. O objetivo do presente estudo foi determinar a frequência da LTE no município do Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco, além de avaliar as características clínicas de equídeos com infecção natural por *Leishmania (Viannia) braziliensis*. Para tanto, foram avaliados 93 equídeos, destes 18,28% (17/93) foram positivos na pesquisa de anticorpos anti-*L. (V) braziliensis*, sendo 75,27% (13/70) em equinos, 20,43% (03/19) em muares e 4,30% (01/44) em asnos. Pode-se concluir com os resultados do presente estudo que a presença de equídeos sororeagentes sugeriu a participação destes animais na cadeia epidemiológica da Leishmaniose Tegumentar Americana.

Palavras-chave: Leishmaniose Cutânea, Diagnóstico, Medicina Equina.

ABSTRACT

The Equine Cutaneous Leishmaniasis (ECL) is a disease with important repercussions for public health. The disease has been present in expanding and reaching different Brazilian states, where infected horses may exhibit different clinical forms and serve as reservoirs for other animals and to humans. The aim of this study was to determine the frequency of ECL in the city of Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco, and to evaluate the clinical characteristics of horses naturally infected with *Leishmania (Viannia) braziliensis*. Thus, we evaluated 93 horses, of 18.28% (17/93) were positive for antibodies anti-L. (*V*) *braziliensis*, 75.27% (13/70) in the horse, 20.43% (03/19) in mules and 4.30% (01/44) in donkeys. It can be concluded with the results of this study that the presence of equine reactive serum suggested the involvement of these animals in the epidemiological chain of Cutaneous Leishmaniasis.

Keywords: Cutaneous leishmaniasis, Diagnosis, Equine Medicine.

3.1- INTRODUÇÃO

Os primeiros estudos sobre a participação de equídeos na cadeia epidemiológica da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) na América do Sul foram registrados na Argentina, no final da década de 1920 (MAZZA, 1927). No Brasil, a confirmação destes animais como reservatório somente foi registrada três décadas depois (ALENCAR, 1959).

Relatos de infecção por *L. (V) braziliensis* em equídeos têm sido descritos no Brasil nos estados do Rio de Janeiro (AGUILAR et al., 1986; AGUILAR e RANGEL, 1987; OLIVEIRA-NETO et al., 1988; BARBOSA-SANTOS, 1994), São Paulo (YOSHIDA et al., 1990) e na Bahia, onde foi reportada soroprevalência de 22% (FOLLADOR, et al., 1999).

Do ponto de vista clínico, segundo Santos et al. (2008), a Leishmaniose Tegumentar possui evolução crônica e acomete a pele e mucosas, isoladamente ou em associação com seres humanos, cães, gatos e equídeos.

Em função do município do Cabo de Santo Agostinho, Microrregião Suape do Estado de Pernambuco, registrar a constância do número de casos de LTA em humanos, com uma média anual de 384 novos casos no período de 2000 a 2009 (SINAN, MS), ficando muito próximos dos dados registrados nas demais regiões endêmicas do estado, com o surgimento com uma média de 245 novos casos no período de 1985 a 2005 (BRASIL, 2007), aliados à falta de informações que correlacionem à participação dos animais domésticos na cadeia epidemiológica da *L. (V) braziliensis*, objetivou-se neste estudo verificar a participação dos equídeos nos focos de LTA, no referido município.

3.2- MATERIAL E MÉTODOS

No período de março a dezembro de 2009, foi realizado um inquérito soropidemiológico da Leishmania Tegumentar Equina (LTE) em equídeos no município do Cabo de Santo Agostinho (8°20'57 "S e 34°56'49" O), Mesorregião Metropolitana do Recife, Microrregião de Suape do Estado de Pernambuco, altitude de 29 metros, e uma população estimada de 185.123 habitantes (IBGE, 2010), com área de 448 km², distando 33 km da capital, apresentando um relevo formado por mar de morros

que antecedem o planalto da Borborema, com uma rica bacia hidrográfica onde se destacam os rios Pirapama e Jaboatão, cortando o município. O clima característico da região é o tropical quente úmido. Na zona rural, predominam restos de vegetação nativa do tipo capoeira, capoeirinha, vegetação arbustiva, coqueiral, canavial e manguezal. A economia do município é baseada em atividades de agricultura, indústria, comércio, turismo e prestação de serviços (PREFEITURA DO CABO DE SANTO AGOSTINHO, 2009).

3.2.1- Animais

Inicialmente, foi realizado um estudo transversal retrospectivo dos casos humanos com os dados das fichas de investigação do Sistema de Informações de Agravos e Notificações (SINAN, MS), fornecidos pela Gerência de Vigilância Ambiental em Saúde da Secretaria Estadual de Saúde de Pernambuco. Quando da busca ativa domiciliar dos casos humanos registrados, foi realizada a procura dos equídeos nas residências visitadas. Uma vez presente, o proprietário concordou na participação do animal no estudo por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, sendo, então, o animal registrado em ficha clínica individual, com informações referentes ao nome, idade, sexo, além de dados clínicos e epidemiológicos. O exame físico consistiu principalmente da inspeção da pele e fâneros, onde foi observada a existência ou não de sinais clínicos sugestivos de LTA.

3.2.2- Coleta do Material Destinado ao Teste Sorológico

Foram colhidos aproximadamente 10 mililitros de sangue por meio de venopunção da veia jugular dos equídeos com seringa⁵ e agulhas descartáveis⁶, sendo posteriormente acondicionados em tubos de ensaio estéreis⁷, com e sem anticoagulante, submetidos a centrifugação a 5.000 RPM para obtenção do plasma e do soro, respectivamente, os quais foram armazenados em tubos de polipropileno⁸ a – 20°C até a realização do exame sorológico.

⁵ Seringa descartável 10mL BD plastipak

⁶ Agulha descartável 40x12BD plastipak

⁷ Tubos de ensaio de vidro estéreis

⁸ Microtubos de polipropileno

3.2.3- Teste sorológico – Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)

O antígeno foi preparado a partir de formas promastigotas de *L. (V.) braziliensis* gentilmente cedidos por Bio-Manguinhos/Fundação Oswaldo Cruz, RJ.

A reação de imunofluorescência para leishmaniose foi realizada conforme descrita por Guimarães et al. (1974). Inicialmente, foi realizada uma reação qualitativa com os soros diluídos a 1/20 em solução salina tamponada (SST). Os soros positivos nesta reação foram, então, diluídos a partir desta diluição em SST, em razão dois, para a determinação do título final. Títulos iguais ou superiores a 40 foram considerados positivos (MARZOCHI et al., 1988).

3.2.4- Análise Estatística

Para verificar a associação entre as variáveis categóricas e a positividade da infecção, foi utilizado o teste de Independência de Qui-quadrado. O software utilizado para análise dos dados foi o BioEstat 5.0.

3.3- RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os dados referentes à frequência de infecção e a procedência dos animais encontram-se na Tabela 4.

Tabela 4: Frequência absoluta (FA) e relativa (FR) dos equídeos com sorologia positiva para *L. (V.) braziliensis*, no município do Cabo de Santo Agostinho segundo a procedência dos animais.

Variável	Grupo				Total	%	p-valor
	Positivos		Negativos				
	FA	FR %	FA	FR %			
Procedência							
Engenho Mupam	01	10,00	09	90,00	10	10,75	0,48
Engenho Arariba de Baixo	09	20,45	35	79,55	44	47,31	
Engenho Arariba de Meio	03	11,54	23	88,46	26	27,96	
Engenho Bom Tom	04	33,33	08	66,67	12	12,90	
Engenho Arariba de Cima	00	00,00	01	100,0	01	01,07	
Pontezinha	00	00,00	00	100,0	00	00,00	
TOTAL	17	18,28	76	81,72	93	100	

*p-valor do teste de independência (se p-valor < 0,05, as variáveis são independentes).

Os dados aqui encontrados foram inferiores aqueles relatados por Follador et al. (1999), que observaram a prevalência de 22% (17/77) de equídeos sororreagentes em Canoa, Santo Amaro, Bahia, e por Vedovello Filho et al., (2008), que constataram a prevalência de 76,3% (42/55) em equídeos provenientes da mesorregião centro norte do estado do Paraná.

Por outro lado, estes resultados foram próximos daqueles registrados em equídeos do município de Itambaracá, região norte do Estado do Paraná, onde foi observada a frequência de 16% de animais sororreagentes (CRUZ, 2008). Vale a pena ressaltar que os animais não apresentaram sinais clínicos sugestivos de LTA.

As diferenças entre as diferentes taxas encontradas podem ser explicadas pelo tipo de teste sorológico empregado, além da evolução da infecção. Contudo a análise estatística (Tabela 4) não revelou diferença estatisticamente significativa ($\chi^2 = 3,433$).

A presença de equídeos sororreagentes sugeriu a participação dos referidos animais domésticos no ciclo da doença no município do Cabo de Santo Agostinho, embora o real papel dessa participação necessite de estudos mais específicos (FOLLADOR et al., 1999).

Com relação ao sexo, apesar do maior predomínio de animais machos sororreagentes, a análise estatística (Tabela 5) não revelou diferença estatística significativa ($\chi^2 = 2,021$).

Tabela 5: Frequência absoluta (FA) relativa (FR) dos equídeos com sorologia positiva para *L. (V) braziliensis* no município do Cabo de Santo Agostinho segundo o sexo dos animais

Variável	Grupo				Total	%	p-valor
	Positivos		Negativos				
	FA	FR %	FA	FR %			
Equídeos							
Fêmeas	04	11,11	32	88,89	36	38,71	0,252
Machos	13	22,81	44	77,19	57	61,29	
TOTAL	17	18,27	76	81,72	93	100	

No que se refere à frequência da infecção de acordo com espécie (Tabela 6), pode-se observar que a espécie equina foi a que apresentou maior porcentual de infecção seguida de muar e asinino. A análise estatística revelou diferença significativa ($\chi^2 = 10,77$).

Tabela 6: Frequência absoluta e relativa dos equídeos com sorologia positiva para *L. (V) braziliensis* no município do Cabo de Santo Agostinho segundo a espécie dos animais.

Variável	Grupo				Total	%	p-valor
	Positivos		Negativos				
Espécie	FA	FR %	FA	FR %			
Equino (a)	13	18,57	57	88,43	70	75,27	
Muar (b)	03	05,26	16	94,74	19	20,43	0,004
Asinino (a)	01	75,00	03	25,00	04	04,30	
TOTAL	17	18,27	76	81,72	93	100	

Letras diferentes na coluna indicam diferença significativa.

De uma maneira geral, os asininos e muares apresentam um comportamento diferente frente às adversidades da doença, distinto dos equinos, e tendem a apresentar uma maior resistência aos agentes infecciosos e parasitários. Acredita-se que muares e asininos são mais rústicos e por esta razão mais adaptados às condições das variações climáticas e ambientais, e ainda existe a possibilidade destes animais não serem, preferencialmente, de eleição para o repasto do mosquito vetor. Entretanto, novos estudos deverão ser realizados para uma melhor compreensão da menor susceptibilidade destas espécies.

3.4- CONCLUSÃO

A presença de equídeos sororreagentes sugere a participação destes animais na cadeia epidemiológica da LTA no município do Cabo de Santo Agostinho.

REFERÊNCIAS

AGUILAR, C. M., et al. Human, canine and equine leishmaniasis caused by *Leishmania braziliensis* in an endemic area in the State of Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 82, p.143, 1987.

_____. Study of an outbreak of cutaneous leishmaniasis in venezuela. The role of domestic animals. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 79, n.2, p.181-195, 1986.

AGUILAR, C.M.; RANGEL, E.F. Leishmaniose tegumentar em uma mula (*Equus caballus* · *Equus asininus*) em áreas endêmicas no estado do Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v.81, p.239–240, 1986.

ALENCAR, J.E. **Calazar canino: Contribuição para o estudo da epidemiologia do calazar no Brasil**. Fortaleza, Imprensa Oficial. Tese, Universidade Federal do Ceará, 1959.

BARBOSA G.M.S., et al. 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.741-646, 1999.

BARBOSA-SANTOS, E. G., et al. Leishmaniasis disseminated by *Leishmania braziliensis* in a mare (*Equus caballus*) immunotherapy and chemotherapy assays. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.89, n.2, p. 217-220, 1994.

BRASIL. **Ministério da Saúde**. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – 2. ed. atual. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2007.

CRUZ, M.F.R, **Estudo Epidemiológico da Leishmania Tegumentar Americana (LTA) no município de Itambaracá, Região Norte do Estado do Paraná, Brasil, em áreas de influência do complexo hidroelétrico na bacia do Rio Paranapanema, 2004 a 2006**. Tese (Doutorado em Epidemiologia) Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo – FSP, USP. 2008

FOLLADOR, I. et al. Surto de leishmaniose tegumentar americana em Canoa, Santo Amaro, Bahia, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 32, p.497–593, 1999.

MARZOCHI, M.C.A; BARBOSA-SANTOS, E.G.O. Evaluation of skin test in the canine mucocutaneous leishmaniasis diagnosis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 83, p.391-392, 1988.

MAZZA, S. Leishmaniasis cutanea en el caballo y nueva observación de la misma em el perro. **Boletín del Instituto Clínico Quirúrgico**. v. 3, p. 462-464, 1927.

OLIVEIRA-NETO, M. P., et al. An outbreak of American Cutaneous Leishmaniasis (*Leishmania (V) braziliensis*) in a periurban area of Rio de Janeiro city, Brazil: clinical and epidemiological studies. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.** v. 83, p. 427–435, 1988.

VEDOVELLO FILHO, D., et al. American cutaneous leishmaniasis in horses from endemic areas in the north-central mesoregion of Paraná State, Brazil. **Zoonosis and Public Health.** v.55, p.149–155, 2008.

YOSHIDA, E.L., et al. Human, canine and equine (*Equus caballus*) leishmaniasis due to *Leishmania braziliensis* (= *L. braziliensis braziliensis*) in the south-west region of São Paulo State, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.** v.85, n. 1, p.133-134, 1990.

4- CONSIDERAÇÕES FINAIS

- O encontro de caninos com lesões cutâneas e com sorologia positiva para *L. (V) braziliensis* no município do Cabo de Santo Agostinho sugere a participação destes animais no ciclo de transmissão da LTA na região;
- A presença de animais com diferentes características clínicas e com presença de anticorpos anti-*L. (V) braziliensis* reforçam a necessidade de uma melhor avaliação clínica dos cães no município do Cabo de Santo Agostinho, com a finalidade de adotar medidas de controle para a LTA e LTC;
- A presença de equídeos sororreagentes sugere a participação destes animais na cadeia epidemiológica da LTA no município do Cabo de Santo Agostinho.

ANEXOS

ANEXO A
FICHA DE IDENTIFICAÇÃO – CANINOS

Nº _____ Data: ___/___/___ Entrevistador: _____

1- Nome do animal: _____ Idade: _____ Sexo: M() F()

Raça: _____ Pelagem: _____ Procedência: _____

Proprietário: _____

Endereço: _____ Nº _____

Bairro: _____

Telefone: _____

2- Caso de LTA canina ou humana na casa? Sim () não ()

3- Inspeção do animal:

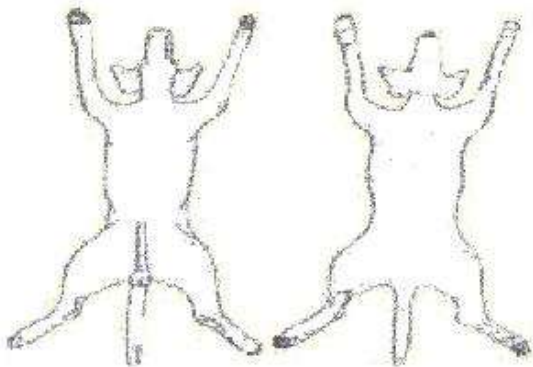
(Estado nutricional: ótimo () bom () regular () ruim ()

Presença de ectoparasitas: sim () não ()

Quais: _____

Presença de lesões: sim () não ()

4- Localização das lesões:



Descrição das lesões: _____

5- Informações clínicas:

Vermifugado () Falta de apetite () Perda de peso ()

Diarréia () Alopecia () Presença de úlceras ()

Aumento de linfonodo ()

Outros: _____

6- Dados sobre o vetor:

A população se queixa de mosquitos: sim () não ()

Período de maior queixa: manhã () tarde ()

Existe vegetação primária ou secundária nas imediações: sim () não ()

7- Existe coleta de lixo regular? Sim () não () Quantas vezes na semana? _____

8- No local estudado há lixos na rua? Sim () não ()

9- Saneamento básico no local da pesquisa? Sim () não ()

10- Material Coletado:

Raspado de pele lesionada () soro () punch ()

ANEXO B
FICHA DE IDENTIFICAÇÃO – EQUÍDEOS

Nº _____ Data: ___/___/___ Entrevistador: _____

1- Nome do animal: _____ Idade: _____ Sexo: M() F()

Raça: _____ Pelagem: _____ Procedência: _____

Proprietário: _____

Endereço: _____ Nº _____

Bairro: _____

Telefone: _____

2- Caso de LTA canina ou humana na casa? Sim () não ()

3- Inspeção do animal:

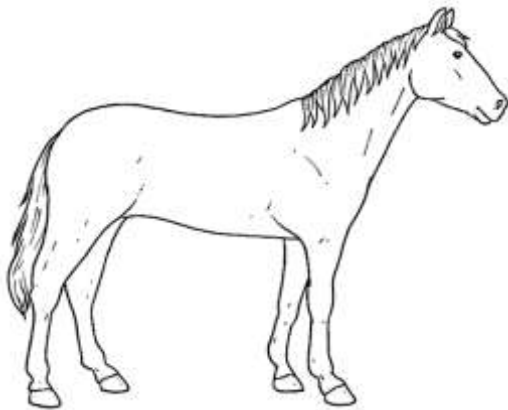
(Estado nutricional: ótimo () bom () regular () ruim ()

Presença de ectoparasitas: sim () não ()

Quais: _____

Presença de lesões: sim () não ()

4- Localização das lesões:



Descrição das lesões: _____

5- Informações clínicas:

Vermifugado () Falta de apetite () Perda de peso ()

Diarréia () Alopecia () Presença de úlceras ()

Aumento de linfonodo () Coloração de mucosas: _____

6- Utilização do animal: _____

7- Dados sobre o vetor:

APÊNDICE

APÊNDICE A
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TÍTULO DA PESQUISA: “Frequência de Anticorpos Anti- *Leishmania Viannia braziliensis* (Vianna, 1911) em Caninos e Equídeos em Áreas de Ocorrência da Leishmaniose Tegumentar Americana no Município do Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco, Brasil”.

Eu, _____
abaixo assinado, dou meu consentimento como voluntário do projeto de pesquisa supracitado, sob a responsabilidade do(s) pesquisador(es) **Judas Tadeu Francisco de Oliveira e Lêucio Câmara Alves (Orientador)** membros da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

- O objetivo geral da pesquisa é: **Avaliar os aspectos epidemiológicos e clínicos da Leishmaniose Tegumentar (LT) em cães e equídeos no município do Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco, Brasil.**
- Afirmo que obtive todas as informações necessárias para poder decidir conscientemente sobre minha participação na referida pesquisa.
- Durante a pesquisa, darei permissão para que se façam estudos em meu animal, e responderei as informações do instrumento de coleta de dados.
- Estou livre para interromper a qualquer momento minha participação na pesquisa.
- Meus dados pessoais serão mantidos em sigilo e os resultados gerais obtidos acerca da saúde do meu animal por meio da pesquisa serão utilizados apenas para alcançar o objetivo do trabalho, exposto acima, incluída sua publicação na literatura científica especializada.
- Poderei contar com o Comitê de Ética em Pesquisa da universidade Federal Rural de Pernambuco para apresentar recursos ou reclamações em relação a pesquisa, por meio do telefone (81) 3220-6404, o qual encaminharei o procedimento necessário.

- Poderei solicitar esclarecimentos da referida pesquisa a qualquer um dos pesquisadores por meio dos telefones: Judas Tadeu Francisco de Oliveira: (81) 9926-8508 e Lêucio Câmara Alves: (81) 9644-6060.

Recife, ____ de _____ de 2009.

Voluntário (a)

R. G.

Pesquisador (es)