MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
INSTITUTO DA SAÚDE E PRODUÇÃO ANIMAL

SADA JAMILIE SOUSA FELIX NAUAR

OCORRÊNCIA DA LEISHMANIOSE (*Leishmania* spp.) NO MUNICÍPIO DE SOURE – ESTADO DO PARÁ, NO PERÍODO DE JANEIRO DE 2018 A JULHO DE 2019

BELÉM – PA

2019

SADA JAMILIE SOUSA FELIX NAUAR

OCORRÊNCIA DA LEISHMANIOSE (*Leishmania* spp.) NO MUNICÍPIO DE SOURE – ESTADO DO PARÁ, NO PERÍODO DE JANEIRO DE 2018 A JULHO DE 2019

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural da Amazônia como requisito básico para a obtenção do título de bacharel em Medicina Veterinária.

Área de Concentração: Epidemiologia

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Andrea Maria Goés Negrão.

BELÉM – PA

2019

N287o Nauar, Sada Jamilie Sousa Felix
OCORRÊNCIA DA LEISHMANIOSE (Leishmania spp.) NO MUNICÍPIO DE SOURE ESTADO DO PARÁ, NO PERÍODO DE JANEIRO DE 2018 A JULHO DE 2019 / Sada Jamilie Sousa Felix Nauar. - 2019.
55 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Curso de Medicina Veterinária, Campus Universitário de Belém, Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2019.
Orientador: Profa. Dra. Andrea Maria Goés Negrão

1. Leishmaniose . I. Negrão, Andrea Maria Goés, *orient.* II. Título

CDD 614.40727

SADA JAMILIE SOUSA FELIX NAUAR

OCORRÊNCIA DA LEISHMANIOSE (*Leishmania* spp.) NO MUNICÍPIO DE SOURE – ESTADO DO PARÁ, NO PERÍODO DE JANEIRO DE 2018 A JULHO DE 2019.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural da Amazônia como requisito básico para a obtenção do título de bacharel em Medicina Veterinária.

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Andrea Maria Goés Negrão

19/11/2019

Data da aprovação

Prof. ª Titular Andrea Maria Goés Negrão
Orientadora/Presidente da Banca Examinadora
Universidade Federal Rural da Amazônia

Prof. º Dr.º Alexandre do Rosario Casseb
Membro Titular da Banca Examinadora
Universidade Federal Rural da Amazônia

Prof. º Dr. º Raimundo Nelson Souza da Silva
Membro Titular da Banca Examinadora
Universidade Federal Rural da Amazônia

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por abundar sua graça em minha vida, que desde o início do curso fez infinitamente mais do que esperei ou mereci.

À minha mãe Fátima Nauar e meu pai Vavá Nauar, por todo o carinho, apoio e incentivo através dos ensinamentos que a vida lhes deu.

Aos meus irmãos, Fádia Nauar e Osvaldo Nauar por serem exemplos de grande integridade em minha vida.

A Dona Telma Cardoso, que sempre foi como uma segunda mãe pra mim e para meus animais.

Agradeço aos meus professores da Universidade Federal Rural da Amazônia, pela grandiosa contribuição para minha formação, em especial a minha orientadora Andrea Negrão, por aceitar esse desafio junto comigo.

A médica veterinária Kelly Albuquerque, que não só proporcionou informações cedidas para este trabalho como também, pelos preciosos conhecimentos e especulação à cerca do tema apresentado, juntamente aos funcionários e estagiários da Adepará de Soure.

Ao meu namorado, João Ricardo, que além da amizade durante a graduação, me fortaleceu com a alegria do seu amor.

Aos amigos que conheci na graduação e que me trouxeram felicidade e descontração para enfrentar os momentos difíceis da faculdade e da vida: Cristiane Parra, Fernanda Rua, Jorge Raposo, Magno Mendes, Silvia Helena.

A tantos outros amigos que ganhei, agradeço por entrarem na minha vida e terem contribuído para o discernimento em ser alguém melhor, em especial Welliane Marçal, que orou e segurou minhas lágrimas para alcançar os propósitos de Deus.

Agradeço ao município de Soure e a população local, por me acolherem e me ajudarem a compreender e refletir sobre as necessidades de cada povo.

“Então você entenderá o que é justo, direito e certo, e aprenderá os caminhos do bem. Pois a sabedoria entrará em seu coração, e o conhecimento será agradável à sua alma”.

Provérbios 2:9,10

RESUMO

As leishmanioses são antropozoonoses consideradas um grave problema de saúde pública, devido sua alta incidência e ampla distribuição epidemiológica. A doença, envolvem diversas espécies de Leishmania da família dos Trypanosomatidae e hospedeiros tendo o cão como principal reservatório urbano. Os vetores são hematófagos dípteros pertencentes à subfamília Phlebotominae do gênero Lutzomya, a principal transmissão do parasita para o homem e outros hospedeiros mamíferos é através da picada das fêmeas, o que torna um fator importante, visto que o vetor é um gênero sinantrópico, com alta adaptabilidade a ambientes domésticos. Duas formas clínicas são conhecidas: a leishmaniose visceral caracterizada por alterações sistêmicas e por vezes cutâneas, e a tegumentar, que podem produzir manifestações com lesões mucocutâneas, formação de úlceras de fundo e bordas salientes de difícil cicatrização, o surgimento de formas graves que conduzem ao óbito se não tratadas. O presente trabalho tem como objetivo identificar a prevalência, distribuição e prováveis fatores de risco da leishmaniose canina em Soure - PA. Foi realizado um estudo com 17 animais, através do diagnóstico clínico e coleta de amostras sanguíneas e mucosas para PCR, no qual foi possível identificar infecção por *Leishmania* spp em 82,35 % dos casos. Os animais foram separados em assintomáticos (50%), oligossintomáticos (14,28%) e sintomáticos (35,71%), os sintomas mais presentes foram onicogrifose, perda de peso, alopercia, descamação da pele e lesão peri ocular, a forma mais grave foi diagnosticada com uveíte, apatia, regressão muscular, linfadenomegalia, esplenomegalia e hepatomegalia à palpação. Os animais foram observados em quatro bairros do município: Umirizal, Centro, Novo e São Pedro, encontrando endemismo em 50%, 21,42%, 14,28% e 14,28% nas áreas respectivamente, associados a presença de vegetação e infraestrutura urbana e sanitária da localidade. Esses achados demonstram a manutenção do ciclo do parasito nessas áreas e podem ser úteis no direcionamento de medidas efetivas para o controle da doença e medidas de educação ambiental para esclarecimento da população em relação a esses fatores de risco.

Palavras chaves: Leishmanise, epidemiologia, cães, PCR, Soure.

ABSTRACT

Leishmaniasis is anthropozoonosis considered a serious public health problem due to its high incidence and wide epidemiological distribution. The disease involves several species of Leishmania of the Trypanosomatidae family and hosts with the dog as the main urban reservoir. The vectors are dipterous hematophages belonging to the subfamily Phlebotominae of the genus Lutzomya, the main transmission of the parasite to man and other mammalian hosts is through the bite of females, which makes it an important factor, since the vector is a synanthropic genus with high adaptability to home environments. Two clinical forms are known: visceral leishmaniasis characterized by systemic and sometimes cutaneous changes, and tegumentary leishmaniasis, which can produce manifestations with mucocutaneous lesions, formation of ulcers and protruding borders of difficult healing, the appearance of severe forms that lead to death if not treated. The present work aims to identify the prevalence, distribution and probable risk factors of canine leishmaniasis in Soure - PA. A study was performed with 17 animals, through clinical diagnosis and collection of blood and mucous samples for PCR, in which it was possible to identify Leishmania spp infection in 82.35% of the cases. The animals were separated into asymptomatic (50%), oligosymptomatic (14.28%) and symptomatic (35.71%). The most common symptoms were onychogryphosis, weight loss, alopercia, skin peeling and periocular lesion. The most severe was diagnosed with uveitis, apathy, muscle regression, lymphadenomegaly, splenomegaly, and hepatomegaly on palpation. The animals were observed in four districts of the municipality: Umirizal, Centro, Novo and São Pedro, finding endemism in 50%, 21.42%, 14.28% and 14.28% in the areas respectively, associated with the presence of vegetation and infrastructure. urban and sanitary area. These findings demonstrate the maintenance of the parasite cycle in these areas and may be useful in directing effective measures for disease control and environmental education measures to inform the population about these risk factors.

Keywords: Leishmanise, epidemiology, dogs, PCR, Soure.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Evandro Chagas, ao microscópio monocular portátil com tripé, observando lâminas de baço de pacientes suspeitos de calazar, sob uma barraca de lona que servia de refeitório em Piratuba, município de Abaetetuba, em 1937-38 18

Figura 2 - Reprodução em aquarela de LTA, feita por Carneiro da Cunha, observado em 1906, apresentado a Sociedade Brasileira de Dermatologia em 1912 19

Figura 3 - Leishmania spp., A) Forma flagelada ou promastigota (ampliação x1000 e coloração May-Grunwald-Giemsa); B) Forma aflagelada ou amastigota (ampliação x100 e coloração Giensa modificado) 20

Figura 4 - Fêmea de Flebotomíneo adulto, ingurgitada 26

Figura 5 - Exemplos de reservatório no ambiente silvestre, A: Dusicyon Vetulus (raposa do campo); B: Didelphis Albiventris (marsupiais) 27

Figura 6 - Figura esquemática do ciclo epidemiológica da Leishmania spp 29

Figura 7 - Sequência de procedimentos diagnósticos, demonstram a associação das técnicas para aumentar os níveis de positividade. 35

Figura 8 - Mapa descritivo do Arquipélago de Marajó 39

Figura 9 - Buldogue Frances, no município de Soure apresentando sinais graves da Leishmaniose. A) Observação de onicogrifose, sintomatologia característica da doença; B) animal apresentando apatia, perda de peso, regressão muscular e alopecia; C) lesão peri ocular, com presença de uveite; D) região abdominal distendida, características observadas de linfadenomegalia, esplenomegalia e hepatomegalia 43

Figura 10 - Distribuição espacial dos casos caninos de leishmaniose na cidade de Soure, Pará, período de janeiro de 2018 a julho de 2019 45

Figura 11 - A) Bairro do Umirizal, terreno baldio, área de mata remanescente e com presença de lixo nas ruas, não pavimentadas de Soure; B) Bairro Centro, presença de lixo ao lado do Mercado Municipal de Soure 46

Figura 12 - Lixão a céu aberto do município de Soure 47

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Casos de LT e LV em humanos no Brasil no período de 2014 a 2018, segundo região de residência 22

Gráfico 2 - Casos de LT e LV em humanos na Região Norte no período de 2014 a 2018 23

Gráfico 3 - Coeficiente de incidência de Leishmaniose Visceral e Tegumentar humana, por 100.000 habitantes, no Estado do Pará no período de 2014 a 2018 23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Espécies de Leishmania e seus respectivos vetores encontradas no Brasil 25

Tabela 2 - Frequências absoluta e relativa de cães com leishmaniose, do município de Soure, conforme as variáveis sexo, idade, sinais clínicos e raça, no período de janeiro de 2018 a julho de 2019 44

LISTA DE SIGLAS

ANCLIVEPA	Associação Nacional de Clínicos Veterinários de Pequenos Animais
DPP	*Dual Path Platform*
ELISA	Ensaio de Imunoenzimático
IFN-γ	Interferon - Gama
IL	Interleucina
LC	Leishmaniose Cutânea
LV	Leishmaniose Visceral
LVC	Leishmaniose Visceral Canina
LT	Leishmaniose Tegumentar
LTC	Leishmaniose Tegumentar Canina
LM	Leishmaniose Mucocutânea
LPI	Local Provável de Infecção
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MS	Ministério da Saúde
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Cadeia da Polimerase
RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
SRD	Sem Raça Definida
SFM	Sistema Fagocítico Mononuclear
Th 1	T *helper* tipo 1
Th 2	T *helper* tipo 2

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 14
2. OBJETIVOS 16
2.1 Geral 16
2.2 Específicos 16
3. REVISÃO DE LITERATURA 17
3.1 Histórico 17
3.2 Agente Etiológico, Origem e Classificação 19
3.3 Epidemiologia 21
3.3.1 Ocorrência 21
3.3.2 Vetores 24
3.3.3 Reservatório 26
3.3.4 Ciclo epidemiológico 27
3.3.5 Vias de Transmissão 29
3.4 Patogenia 29
3.4.1 Evolução 29
3.4.2 Incubação 30
3.4.3 Resposta Imune 30
3.5 Prevalência e Fatores de Risco 31
3.6 Diagnóstico da Leishmaniose 32
3.6.1 Diagnóstico Clínico 32
3.6.2 Diagnóstico Sorológico 33
3.6.3 Diagnóstico Parasitológico 34
3.6.4 Diagnóstico Molecular 34
3.7 Controle e Profilaxia 35
3.7.1 Controle dos Reservatórios 36
3.7.2 Controle dos Vetores Biológicos 37
3.7.3 Imunoprofilaxia 37
3.8 Vigilância Epidemiológica da Leishmaniose 38
4. MATERIAL E MÉTODOS 40
5. RESULTADOS E DISCURSÃO 42
6. CONCLUSÃO 48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFIACAS 49
ANEXO 55

1. INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma zoonose de grande importância, constituindo problema de saúde pública, apresentando uma alta taxa de mortalidade e morbidade, principalmente em áreas rurais. Atualmente a leishmaniose ocorre em 98 países e cerca de 350 milhões de pessoas estão em situação de risco de adquirir a infecção (OMS, 2010). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a cada ano são registrados quase dois milhões de novos casos de leishmaniose no mundo

No Brasil é considerada uma doença reemergente com certa expansão, levando em consideração o crescimento dos centros urbanos e as dificuldades socioeconômicas, o que mostra, segundo estudos que a leishmaniose não está mais apenas confinada às regiões florestais ocorrendo também nas periferias e nos grandes centros urbanos (RODRIGUES et al., 2018 *apud* JESUS & ARAÚJO, 2007; COSTA et al., 2011).

O principal vetor brasileiro é conhecido popularmente, por mosquito-palha, birigui ou tatuquiras, é um inseto muito pequeno, que costuma se reproduzir em locais com muita matéria orgânica em decomposição (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017). O inseto é um díptero hematófago que pertencem à subfamília *Phlebotominae*, através da picada pode transmitir o protozoários intracelulares do gênero *Leishmania*, da família dos *Trypanosomatidae*. A Leishmaniose é uma enfermidade, conhecida em diversas formas clínicas: cutânea, cutânea difusa, mucocutânea e visceral ou calazar (OMS, 2010; RODRIGUES et al., 2018), dependendo da espécie de parasito envolvido na infecção.

O diagnóstico precoce e o tratamento, parece ser a estratégia mais importante para reduzir casos fatais, porém, sabe-se que não se tem um teste que confirme 100% a especificidade e sensibilidade para tal doença, o diagnóstico deve ser baseado na associação da avaliação clínica com técnicas parasitológicas, sorológicas e moleculares (SCHIMMING et al 2012, RODRIGUES et al., 2018)

Desse modo, o presente trabalho tem como objetivo realizar um estudo sobre a endemecidade da *Leishmaniose* spp. na Região de Soure, através de análises que resultados moleculares de PCR, por meio do sangue total, suabe conjuntival e nasal nos animais provenientes da localidade, no qual vem sendo relatada nos últimos anos caso de soroprevalência canina. Fazendo-se uma correlação das sintomatologias clínicas apresentadas pelos animais em estudo, bem como a influência de fatores como a

disponibilidade de lixo nas ruas e o processo acelerado de urbanização, o que contribui para que esses insetos se desenvolvam em áreas periurbanas e urbanas, indicando a capacidade de habitar ambientes antrópicos.

Conhecer, portanto sobre a enfermidade e fazer a comparação quanto essas variáveis, pode-se estabelecer um perfil epidemiológico em Soure, considerando o despeito de medidas adotadas para o controle da doença, uma vez que afeta, em sua maioria, populações mais carentes (VARIZA, 2016).

2. OBJETIVO

2.1 Geral

Demonstrar ocorrência de infecção natural de Leishmaniose Visceral Canina (LVC) e Leishmaniose Tegumentar Canina (LTC) em cães domiciliados no município de Soure na região de ilha do Marajó, Pará, Brasil, no período de janeiro de 2018 a julho de 2019.

2.2 Específico

2.2.1 Descrever os aspectos epidemiológicos dos cães positivos através das variáveis: sexo, raça, idade, motivo do exame, material biológico positivo, bairro de procedência e desfecho da doença;

2.2.2 Traçar um perfil epidemiológico dos cães positivos, correlacionando as condição clínica destes cães com os resultados dos exames laboratoriais realizados, bem como com os fatores ambientais da localidade.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Histórico

Em meados do século XIX para o XX, a doutrina microbiana de Louis Pasteur e Robert Koch, proporcionaram a relação entre doenças infectocontagiosas e micro-organismos patogênicos específicos, como bactérias, fungos e protozoários, dando espaço para a elucidação da "teoria do mosquito" por Patrick Manson e Ronald Ross, comissão chefiada por Walter Reed, que possibilitou a agnição dos mecanismos de transmissão de doenças, discutidas naquele período (JOGAS JR., 2017).

Os primeiros casos de leishmaniose visceral foram observado na Índia no ano de 1885 por Cunningham e, somente alguns anos mais tarde, em 1901, Willian Boog Leishman e Charles Donovan, fizeram a descrição do agente causador da leishmaniose, porém sobre a forma involutiva do *Trypanosoma.* Após estas descrições equivocadas, Ronald Ross, em 1903, criou o gênero Leishmania e batizou o agente causador de *Leishmania donovani*, em homenagem aos descobridores, aprofundando a descrição da descoberta. (SILVA 2007; BETTIO, 2017).

Na Tunísia, em 1908, foi sugerido por Nicole e Comte, a possível participação de cães no ciclo epidemiológico do agente como reservatório (BETTIO, 2017; SILVA, 2007 *apud* NICOLLE & COMTE, 1908).

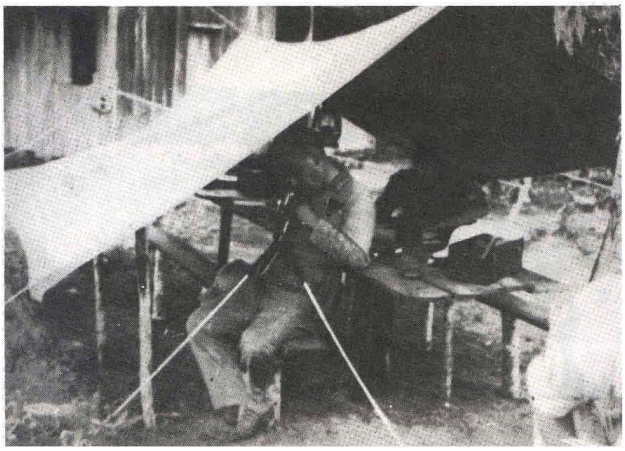
Nas Américas, em 1911, Carlos Chagas, no Brasil, suspeitou da doença. Alguns anos seguintes, em 1913, foi diagnosticado no Paraguai por Migone, o primeiro caso proveniente do estado do Mato Grosso, mas tratando-se de um italiano não foi possível, na ocasião, considerá-lo autóctone do Brasil (DEANE, 1986; BETTIO, 2017).

Penna, em 1934, enquanto pesquisava sobre a febre amarela, pela primeira vez encontrou o parasita em lâminas histológicas de fígado de pacientes provenientes das regiões Norte e Nordeste demonstrando a existência de parasitas semelhantes à *Leishmania donovani.* Assim, o grande número de casos diagnosticados por Penna e o fato de serem de zonas rurais e incluindo muitas crianças, sugeriam sua autoctonia. (DEANE, 1986; SILVA, 2007*apud* PENNA, 1934; BETTIO, 2017).

No Brasil, Evandro Chagas, realizou os primeiros achados em meados de 1936 a 1938 da infecção canina por Leishmania através da demonstração da doença por meio do flebótomo *Lutzomyia longipalpis*. Mediante as características morfológicas do parasito e da etiopatogênia, foi denominada de *Leishmania chagasi*, em homenagem a Carlos Chagas (SILVA 2007; BETTIO, 2017).

Deane em 1956, descreve que mesmo depois de cinquenta anos, o *Lutzomyia longipalpis* ainda fora observada como principal vetor da doença, uma vez que era o flebótomo mais encontrado nas casa, alimentando-se de pessoas e cães. Assim, Deane descreve que Evandro Chagas acreditava que o calazar, por ser neotropical e autóctone é causado por um agente diferente de outras regiões, dessa forma haveria a necessidade da existência de um animal silvestre também funcionando como reservatório, o que definia a doença como uma zoonose. Diversos animais foram encontrados infectados com o parasita em florestas do sul do Brasil, onde se iniciaram em 1958, as campanhas governamentais das áreas de ocorrência da doença e o controle da LV no Brasil (SILVA 2007; DEANE 1986).

Figura 1 - Evandro Chagas, ao microscópio monocular portátil com tripé, observando lâminas de baço de pacientes suspeitos de calazar, sob uma barraca de lona que servia de refeitório em Piratuba, município de Abaetetuba, em 1937-38.



Fonte: DEANE, 1986.

No período de 1925, o primeiro e segundo fascículos do primeiro volume dos *Annaes Brasileiros de Dermatologia e Syphilographia*, Eduardo Rabello publica na seção de "Memórias Originais" com trabalho intitulado "Contribuições ao estudo da leishmaniose tegumentar no Brasil", o histórico e sinonímia da doença leishmaniose tegumentar (LT). O autor conclui que a doença já existia no Brasil desde muitos anos, apresentando em três períodos. O primeiro, baseada em referências vagas, vai até 1895, ano da observação clínica do “botão da Bahia” em comparação ao “botão do Oriente”. O segundo estende-se até 1909, quando é identificado e descrito o agente etiológico da “úlcera de Bauru”. O terceiro com início em 1910 através do achado do parasita em lesões mucosas, então incorporadas ao quadro clínico da doença, indo até a época da publicação do artigo (VALE *et al.*, 2005 apud RABELLO ,1925).

Cerqueira, em 1855, observara a existência da moléstia da pele, identificando-a clinicamente como botão de Biskra. Em 1895, na Itália, Breda, descreveu a moléstia em italianos

provenientes de São Paulo. Porém, a natureza leishmaniótica das lesões cutâneas e nasofaríngeas só foi confirmada no Brasil, pela primeira vez, em 1909, por Lindenberg, que encontrou formas de *Leishmania*, idênticas à *Leishmania tropica* em lesões cutâneas de pessoas que trabalhavam nas matas do interior do Estado de São Paulo, Gaspar Vianna, por considerar o parasito diferente da *L. tropica***,** o batizou de *L. braziliensis*, ficando assim denominado o agente etiológico da "úlcera de Bauru" (BASANO, et al., 2004; VALE *et al*., 2005).

Até a década de setenta, admitia-se a *Leishmania braziliensis* era único agente da leishmaniose tegumentar americana (LTA) no país. No início da década de 1960 as classificações dos parasitas baseavam-se exclusivamente no comportamento clínico-evolutivo, configurando formas clínicas da doença nas diversas regiões geográficas, posto que a morfologia dos parasitas. Devido ao aprimoramento das técnicas de análise e a intensificação dos estudos ecológicos e epidemiológicos, como as características do comportamento do parasita em meios de cultura, animais de experimentação e vetores, outras espécies foram descritas, sendo registradas até o momento seis espécies causadoras da LTA (BASANO, et al., 2004; VALE *et al*., 2005).

Figura 2 - Reprodução em aquarela de LTA, feita por Carneiro da Cunha, observado em 1906, apresentado a Sociedade Brasileira de Dermatologia em 1912.

Fonte: VALE *et al*., 2005

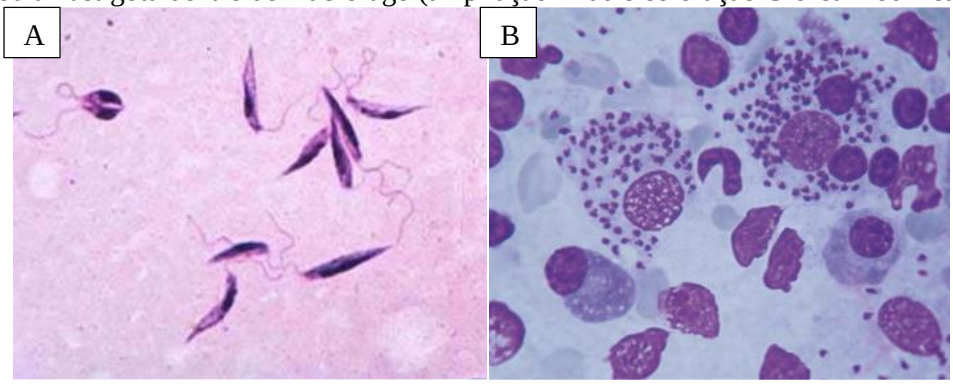
3.2 Origem, Classificação e Agente etiológico

A doença leishmaniose, apresenta distribuição mundial, sendo esta infecciosa de caráter crônico apresentando variações clínicas desde formas cutânea, cutâneas mucosas, cutânea disseminada e cutânea difusa sendo esta chamada leishmaniose tegumentar e a até a forma visceral todo como leishmaniose visceral, causadas por distintas espécies infectante de

Leishmania observadas tanto no Velho como no Novo Mundo, bem como a condição imunológica do hospedeiro (SILVA, 2007; HEUSSER JR., *et al.*, 2010).

São causadas por protozoários do gênero *Leishmania* pertencem a ordem *Kinetoplastida*, da família *Trypanosomatidae*, possuindo um ciclo biológico heteroxenico, sendo estes parasita intracelular obrigatório das células do sistema fagocítico mononuclear (SFM), necessitando de um hospedeiro vertebrado apresentando a forma aflagelada ou amastigota, podendo ser canídeos silvestres ou domésticos, roedores e humanos, sendo esta encontrada nos tecidos e outro hospedeiro invertebrado, com a forma flagelada ou promastigota (Figura 3), encontrada no tubo digestivo do inseto vetor (MINISTÉRIO DA SAÚDE., 2006*;* SILVA, 2007; HEUSSER JR., *et al.*, 2010; SOCCOL *et al*., 2015).

Figura 3 - *Leishmania* spp., A) Forma flagelada ou promastigota apresentando núcleos redondos e o cinetoplasto em formato de bastonete (ampliação x1000 e coloração May-Grunwald-Giemsa)*;* B) Forma aflagelada ou amastigota dentro de macrófago (ampliação x100 e coloração Giensa modificado).



Fonte: Solano-Gallego et al., 2011

As classificações mais utilizadas na atualidade, seguem o modelo taxonômico proposto por Lainson & Shaw em 1987. No Brasil 10 espécies já foram reconhecidas para LT (Tabela 1), sendo que sete podem afetar o homem e animais (*L. (V.) braziliensis*, *L. (L.) amazonensis*, *L. (V.) guyanensis*, *L. (V.) lainsoni*, *L. (V.) shawi*, *L. (V.) naiffi* , *L. (L.) infantum*) e apenas três espécies em animais (*L. enrietti i*, *L. deanei*, *L. forattini*). O parasito é intracelular obrigatório nos hospedeiros vertebrados e nos vetores estão no intestino, portanto são dimórficos e heteróxenos (CRMV/PR, 2015).

Nas Américas, a *Leishmania chagasi* e a espécie comumente observada em pacientes com leishmaniose visceral (LV). A *Leishmania donovani e a Leishmania infantum* são exemplos de espécies causadoras da LV na África, Europa e Ásia, sendo a *L. donovani* responsável pela infecção em humanos, enquanto que a *L. infantum* e *L. chagasi* causam LV tanto em humanos quanto em cães (SILVA, 2007 *apud* MICHALICK & GENARO, 2005; MINISTÉRIO DA

SAÚDE, 2006; SOCCOL *et al.*, 2015).

3.3 Epidemiologia

3.3.1 Ocorrência

A leishmaniose em humanos acomete populações mais pobres do mundo, principalmente aquelas que habitam em áreas rurais e suburbanas. Ela é uma doença endêmica verificada em 66 países no Velho Mundo e em 22 no Novo Mundo, cerca de 12 milhões de seres humanos são portadores da enfermidade e 350 milhões de pessoas aproximadamente, correm risco de adquirir a doença. Anualmente de um a um milhão e meio de novos casos de doença cutânea e quinhentos mil novos casos da forma visceral que são a forma potencialmente fatal (GREENE, 2015).

No homem, várias espécies de *Leishmania* podem causar a doença que a levam a sua sintomatologia, assim, foram divididas em três formas, de acordo com as manifestações clínicas: a leishmaniose cutânea (LC), a leishmaniose mucocutânea (LM) e a leishmaniose visceral (LV). Algumas espécies causam mais de uma forma da doença (GREENE, 2015).

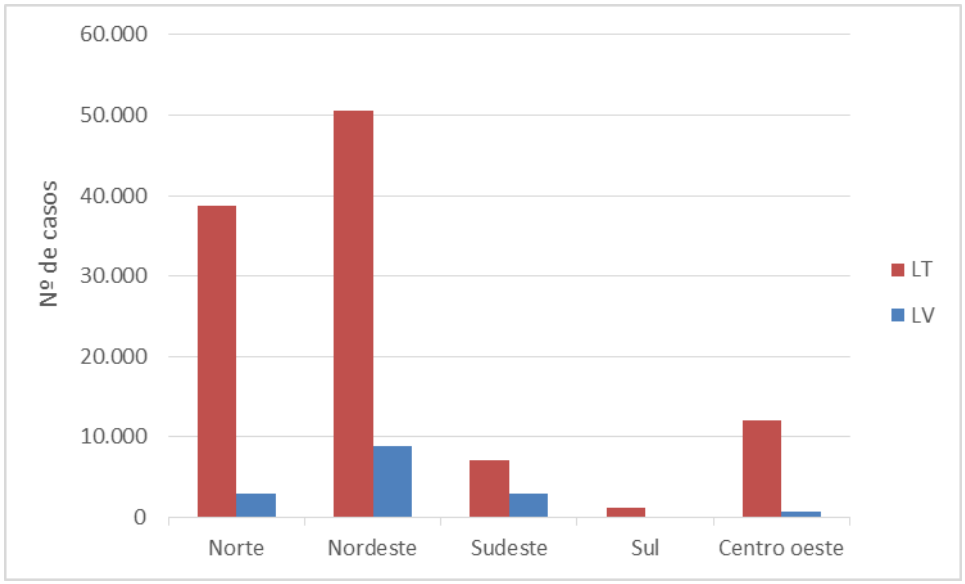
A leishmaniose tegumentar é apontada pela OMS segundo o Ministério da Saúde (2017) como uma das seis mais importantes doenças infecciosas, pela alta capacidade de criar deformações, ela se apresenta em 85 países, encontrados em quatro continentes (Américas, Europa, África e Ásia), com registro anual de 0,7 a 1,3 milhão de casos novos. No Brasil, além da doença apresenta ampla distribuição com registro de casos em todas as regiões brasileiras. Os principais reservatórios hospedeiros para *Leishmania* spp. que provocam LC e LM nos seres humanos consistem em roedores e outras espécies de animais selvagens.

Os cães domésticos são considerados principais reservatórios da LV nos seres humanos da bacia do Mediterrâneo, Oriente Médio e América do Sul, sendo o L. infantum (L. chagasi) o agente etiológico da infecção, no Brasil (GREENE et al., 2015). Assim, a LV está distribuída pelo mundo, existindo relatos de sua endemicidade em 88 países (ALVES et al., 2008), onde 72 desses países estão em desenvolvimento ou emergente e os outros 16 são desenvolvidos. No Brasil, a enfermidade se encontra em 19 estados, onde e sua maioria relatada é observada no Nordeste. Considerada um grave problema de saúde pública, devido sua magnitude e expansão geográfica, em 2009, atingiu todas as cinco regiões brasileiras, ocorrendo em 21 das 27 Unidades Federativas (GONÇALVES, 2014).

A diversidade de espécies do gênero *Leismania* têm sido isoladas de casos humanos, caninos, roedores e marsupiais de diferentes regiões do Brasil, que manifestam características bioquímicas e biológicas diferentes relacionadas as variedades de aspectos clínico-

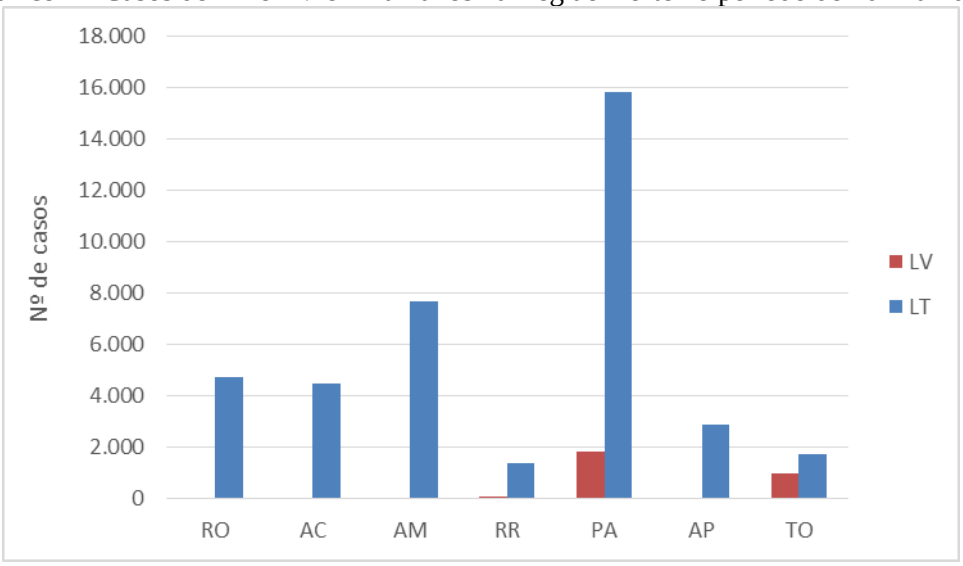
epidemiológicos (GAMA *et. al*., 2009 *apud* GUERRA *et aI*., 2002). De acordo com MINISTÉRIO DA SAÚDE (2017) essas espécies, apresenta ampla distribuição, sendo encontrada em espaços geográfico, climático e social variados, nas regiões norte, nordeste, centro-oeste e sudeste. Através de notificações do MINISTÉRIO DA SAÚDE, é observada a evolução dos casos de LT e LV em humanos, nos períodos de 2014 à 2018 onde a Região Norte é a segunda maior ocorrência da enfermidade (Gráfico 1). O Pará, apresenta um grande incidência comparada as demais regiões do Norte, tanto em LV quanto em LT (Gráfico 2). De 2014 a 2018 foram registrados 41.695 de casos de Leishmaniose no Estado do Pará, com média anual de 8.339 casos novos. No entanto, observa-se uma redução nos caso de LT de 6% (SINAN/SVS/MS, janeiro, 2019) e aumento de 11,76% de caso em humanos com LV (SINAN/SVS/MS, outubro, 2017) comparando os anos de 2014 e 2018.

Gráfico 1 - Casos de LT e LV em humanos no Brasil no período de 2014 a 2018, segundo região de residência.



Fonte: Elaborado com dados do Sinan/SVS/MS.

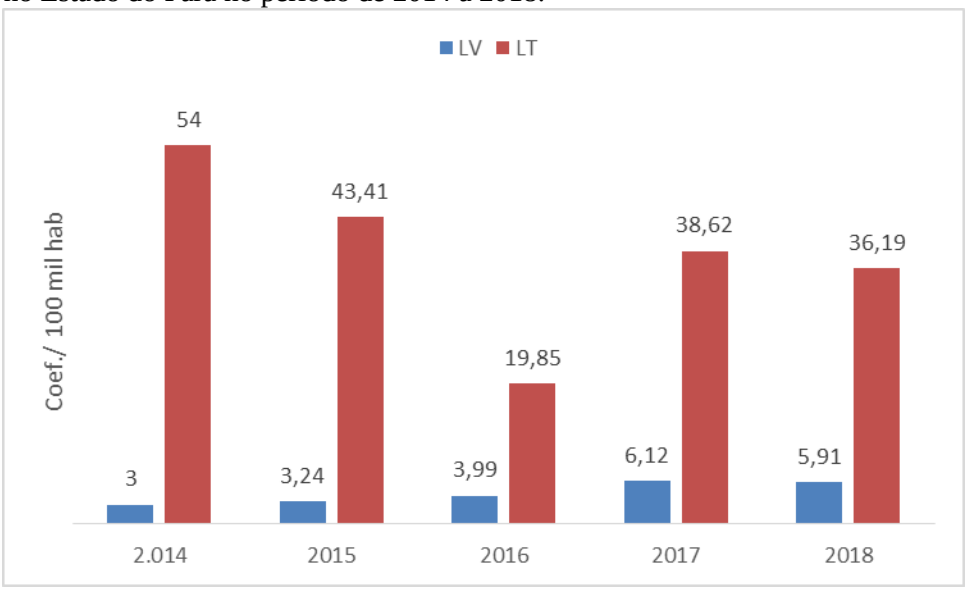
Gráfico 2 - Casos de LT e LV em humanos na Região Norte no período de 2014 a 2018.



Fonte: Elaborado com dados do Sinan/SVS/MS.

Assim, no coeficiente de detecção passou de 2,74 casos por 100 mil habitantes no primeiro ano, para 5,91 casos por 100 mil habitantes no último ano do período analisado (Gráfico 3) em LV, diferente da LT que apresentou uma diminuição de 17,81 no entanto, esta diminuição no número de casos pode representar uma flutuação que ocorre normalmente no ciclo da doença. Em análise geral, ocorreu transmissão durante esses cinco anos, onde ocorreu pico em 2014 com sua regressão em 2016, apresentando ocorrência de novos caso autócnes registrados em todo o território brasileiro no período de 2018.

Gráfico 3 - Coeficiente de incidência de Leishmaniose Visceral e Tegumentar humana, por 100.000 habitantes, no Estado do Pará no período de 2014 a 2018.



Fonte: Elaborado com dados do Sinan/SVS/MS.

Apesar das medidas de controle preconizadas desde 1980, eutanásia de cães positivos, o controle do vetor, diagnóstico precoce e tratamento dos casos humanos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006), é notado a expansão da doença no território brasileiro.

3.3.2 Vetores

Os vetores de *Leishmania* spp. são flebotomíneos (Figura 4), conhecidos popularmente como: mosquito-palha, cangalhinha, flebótomo, arrepiado, assadura, asa da palha, birigui, orelha de veado e tatuíra. Eles se desenvolvem em solo úmido, não molhados, diferente de outros vetores que se desenvolvem em água, ou em detritos com matéria orgânica em decomposição e com pouca luminosidade. Possuem hábitos noturnos, iniciando suas atividades após o crepúsculo até ao amanhecer. Ao dia vivem escondidos em buracos ou troncos de árvores, nas casas, nos estábulos, canis, pocilgas, frestas, fendas de paredes, lixo, entre outros (SCCOOL, 2015).

Existem diferentes espécies de *Leishmania* pelo mundo, as espécies de psicodideos também apresentam outras atuações diferenciados na transmissão da doença em distintas regiões geográficas. No Velho Mundo os transmissores da Leishmaniose visceral tanto em humanos quanto caninos pertencem ao gênero *Phlebotomus (P. perniciosus, P. ariasi, P. neglectus, P. perfiliewi)* e nas Américas Central e do Sul a espécie *Lutzomyia longipalpis* constitui o único vetor extremamente eficiente na transmissão da LV e da LVC pertencente a ordem *Diptera* e família *Psychodidae* (GONTIJO & MELO, 2004; SILVA, 2007).

Tabela 1- Espécies de *Leishmania* e seus respectivos vetores encontradas no Brasil.

Gênero e Espécie	
Leishmania	***Vetor***
L. (V.) braziliensis	*Lu. whitmani* *Ps. welcomei* *Lu. neivai* *Lu. intermedia*
L. (L.) amazonensis	*Lu. flaviscutellata*
L. (V.) guyanensis	*Lu. umbratilis*
L. (V.) lainsoni	*Lu. ubiquitalis*
L. (V.) naiffi	*Ps. ayrozai* *Ps. paraensis* *Ps. Squamiventris*
L. (V.) shawi	*Lu. whitmani*
L. (V.) deanei	*Lu. furcate*
L. (L.) infantum (syn. L. chagasi)	*Lu. Longipalpis*

Fonte: Adaptado de CRMV/ PR (2015)

O ciclo biológico do inseto que transmite a doença, acontece no ambiente terrestre e apresentam quatro fases de desenvolvimento: ovo, larva (com quatro estádios), pupa e adultos. As fêmeas colocam seus ovos sobre um substrato úmido no solo que tenha uma alta taxa de matéria orgânica, onde ocorre a alimentação das larvas. Os ovos eclodem geralmente de 7 a 10 dias depois da postura. As larvas desenvolvem-se em média entre 20 a 30 dias, de acordo com as condições ambientais. As larvas no quarto estádio podem entrar em diapausa, onde para o seu desenvolvimento para ter resistência até um período, após esse período as larvas de quarto estádio transformam-se em pupas, que são mais resistentes as variações de umidade do que os ovos e as larvas. As pupas geralmente são imóveis e fixas ao substrato, pela extremidade posterior, elas não se alimentam e tem respiração aérea, em condições favoráveis o período pupal tem duração em média de uma a duas semanas. Nessas condições, o desenvolvimento do ovo ao inseto adulto ocorre em um período de aproximadamente 30 a 40 dias conforme a temperatura (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

Figura 4 - Fêmea de Flebotomíneo adulto, ingurgitada

Fonte: https://leishmaniose.weebly.com/vetor.html

3.3.3 Reservatórios

Na área urbana, o cão doméstico (*Canis familiaris*) é a principal fonte de infecção sendo essa de grande importância na epidemiologia da LV em áreas endêmicas, uma vez que se torna o único reservatório da doença. A enzootia canina, tem precedido a ocorrência de casos humanos sendo infecção em cães mais prevalente do que no homem (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

Em áreas silvestres outros canídeos também são zoonóticos da LV como o cachorro do mato (*Cerdocyon thous*) (Figura 5: A), a raposa do campo (*Lycalopex vetulus= Dusicyon vetulus*), e os e os sariguês ou saruês e marsupiais das espécies *Didelphis marsupialis e Didelphis albiventris* (Figura 5: B), estes últimos, encontrados infectados no Brasil nas regiões Nordeste, Sudeste e Amazônica e na Colômbia. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006; SILVA, 2007). O fato destes animais terem hábitos sinantrópicos pode propiciar o elo epidemiológico entre os ciclos silvestres e domésticos (BORDONI, 2014 *apud* GONTIJO & MELO, 2004).

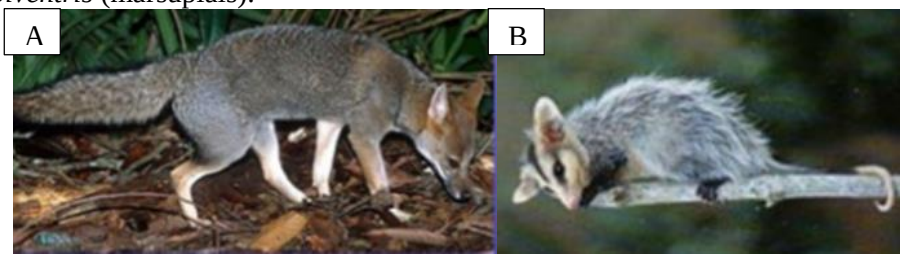
Além destes, equídeos e roedores também têm sido identificados como reservatórios em regiões rurais e periurbanas. No qual sua importância consiste atrai, manter e aumentar a densidade populacional do vetor em regiões peridomicíliar, contribuindo dessa forma para a perenidade do ciclo da LV. Eventualmente, a leishmaniose visceral pode acometer o gato (BORDONI, 2014 *apud* JULIÃO, 2004; SCHIMMING *et al* 2012).

Inicialmente acreditava que a LT era uma zoonose animais silvestres, como o gambá, por exemplo, já que casos humanos só ocorriam quando os mesmos entravam em focos endêmicos, florestas, áreas de desmatamento e extrativismo, no entanto ela tem sido assinalada em ambientes antrópicos de áreas endêmicas, sendo observados casos próximos ao centros urbanos e domiciliares, onde há a possibilidade de animais domésticos, como os cães, gatos, equídeos e roedores infectados que participariam na observação da enfermidade, se apresentando como reservatórios dos agentes infecciosos, porém, o envolvimento destes animais no ciclo de transmissão não foram esclarecidos, (GAMA *et al.,* 2009 *apud* MARZOCHI, 1992; GONTIJO

et al., 2011; RODRIGUES *et al.*, 2018 apud LONARDONI *et al.*, 2006), uma vez que, os fatores relacionados com a epidemiologia da LT variam entre regiões endêmicas e pode ser que em certas regiões o cão não desempenhe papel significativo, enquanto que em outras, pode atuar como reservatório secundário, ou ainda, como amplificador da infecção, mantendo a parasitose nas áreas de peri e intradomicilio (HEUSSER *et al.*, 2012).

Desse modo, como a Leishmaniose apresenta diversidade de agentes etiológicos, de reservatórios, de vetores, com diferentes padrões de transmissão, visto que o ciclo de transmissão apresenta características peculiares de cada região endêmica, por isso, nem sempre e possível extrapolar dados de uma localidade para outra, pois as condições fitogeográficas tendem a ser distintas, podendo não haver similaridades entre os fatores bióticos como, a presença da mesma espécie de parasita, reservatórios silvestres, flebotomineos e também um conhecimento ainda limitado sobre alguns aspectos, o que torna a enfermidade de difícil controle (HEUSSER *et al.*, 2012; RODRIGUES *et al.*, 2018 *apud* FNS, 2010).

Figura 5 - Exemplos de reservatório no ambiente silvestre: A) *Dusicyon Vetulus* (raposa do campo); B) *Didelphis Albiventris* (marsupiais).



Fonte: https://pt.slideshare.net/gildocrispim/aula-n-4-leishmaniose

3.3.4 Ciclo epidemiológico

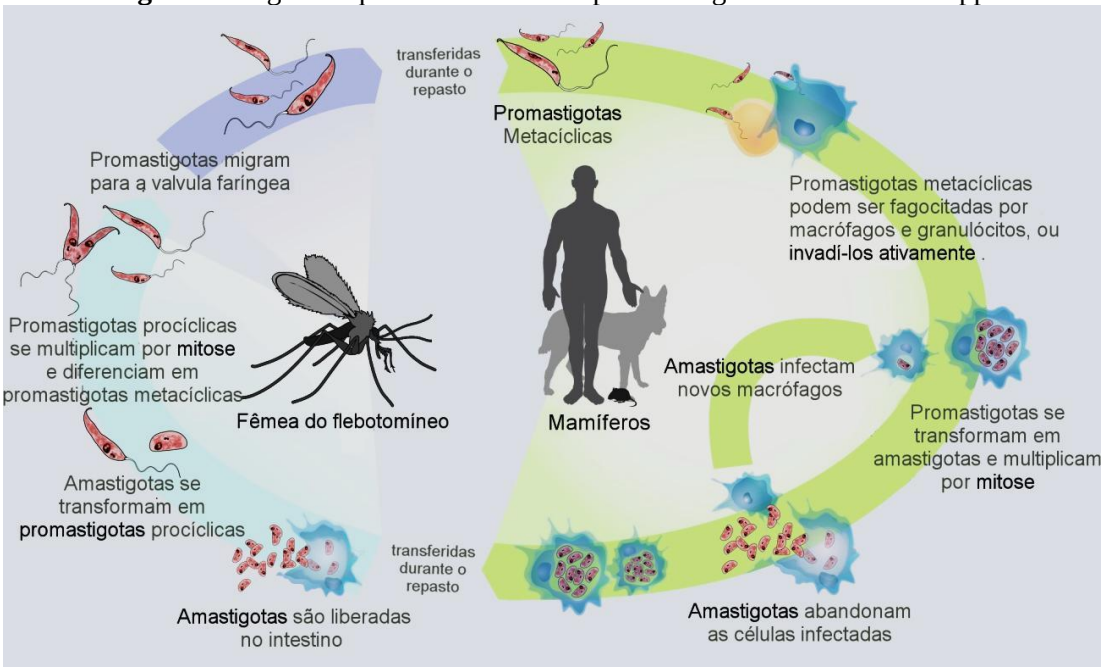
O início do ciclo da *Leishmania* acontece quando as fêmeas hematófagas, realizam o repasto sanguíneo em diversas espécies de animais vertebrados, inclusive em humanos, cuja em áreas urbanas, o cão parece ser a fonte principal de alimentação no ambiente doméstico, sendo a longevidade das fêmeas estimada em média de 20 dias. Os flebotomineos tem atividade crepuscular e noturna. Em áreas intra e peridomiciliar estes insetos são encontrados, próximo a uma fonte de alimento, no decorrer o dia, eles ficam em repouso, nos lugares sombreados e úmidos, protegidos do vento e de predadores naturais (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

As fêmeas de flebotomíneo se infecta ao sugarem o sangue de mamíferos infectados, ingerindo a forma amastigota da *Leishmania*, dos macrófagos parasitados. No trato digestivo anterior do vetor, ocorre o rompimento dos macrófagos liberando essas formas, que por divisão binária se reproduzem e se diferenciam rapidamente na forma flagelada, chamada de

promastigota que transformam-se também por processos sucessivos da divisão binaria simples em paramastigotas onde colonizam o esôfago e a faringe do vetor no qual permanecem aderidas ao epitélio pelo flagelo, até se diferenciarem em promastigotas metaciclica, que seria a forma infectante, sendo estas altamente móveis onde se deslocam para probócida do inseto que poderá ser inoculada na pele do próximo hospedeiro vertebrado no repasto sanguíneo. Este ciclo do parasito no inseto completa em torno de 72 horas ou até mesmo segundo autores, de 4 a 7 dias que depende das condições ambientais (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006; GAZZINELLI, 2011; SOCCOL *et al*., 2015).

Após este período, o inseto, na tentativa de ingestão de sangue, injeta as formas promastigotas metacíclica no local da picada de um hospedeiro vertebrado. Dentro de 4 a 8 horas estes flagelados são fagocitadas por células dos sistema mononuclear fagocitário. No interior dos macrófagos, mais precisamente no vacúolo parasitóforo, eles diferenciam-se em amastigotas e multiplicam-se intensamente até o rompimento dos mesmos, onde ocupam todo o citoplasma, ocorrendo a liberação destas formas, que se propagam para as células não infectadas (BORDONI, 2014 *apud* REINER e LOCKSLEY, 1995). As amastigotas são encontradas no sangue 24 horas após a fagocitose, formando novos ciclos de multiplicação iniciando a reação inflamatória, havendo então a disseminação hematogenica para outros tecidos ricos em células do sistema mononuclear fagocitário, como linfonodos, fígado, baço e medula óssea (SILVA JR., 2006; GAZZINELLI, 2011; SOCCOL *et al*., 2015), ou ainda é possível identificar monócitos e macrófagos infectados, circulantes no sangue periférico, que atuam, dessa forma, como portadores do parasita para locais mais distantes, ou seja, periférico do hospedeiro (BORDONI, 2014 *apud* LIPOLDOVA e DEMANT, 2006).

Figura 6 - Figura esquemática do ciclo epidemiológica da *Leishmania* spp.



Fonte: http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons (Adaptado por Daniel Doro).

3.3.5 Vias de transmissão

No Brasil, embora a forma de transmissão seja através da picada dos vetores é possível outros modos de transmissão, como a transmissão *in útero* que seria da fêmea para a usa prole; transmissão venérea de machos infectados para fêmeas sadias; transmissão por artrópode não-flebotomíneo (pulgas ou carrapatos) seja por picada ou ingestão, não se tem uma importância epidemiológica para clara; e também há relatos de transfusão sanguínea onde os portadores apresentam características subclínica da infecção (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006; BORDONI, 2014; GREENE, 2015).

3.4 Patogenia

3.4.1 Evolução

Animais com LT apresentam geralmente sintomas de lesões ulceradas no pavilhão auricular, no focinho, na bolsa escrotal e na face. Sabendo que a doença tem curso crônico, o animal fica estável sistemicamente, no entanto as lesões podem aumentar em tanto em quantidade como em tamanho. Pode ter cura espontânea com recidivas posteriores, como também pode agravar, afetando mucosa nasal, porém o que prevalece na literatura são achados de lesões únicas nos animais, algumas lesões com crostosas (GONTIJO *et al.*, 2011).

Na LV após a inoculação do parasito ocorre à disseminação do agente a outros órgãos via sistema hemolinfático. O parasitismo inicia na pele, linfonodos, baço e medula óssea, seguindo

para o fígado e rins e, depois para os órgãos reprodutivos. Com a evolução da doença, os parasitos acometem a bexiga, sistema respiratório e digestivo e novamente a pele, por isso faz-se o diagnóstico diferencial com LT (BETTIO, 2017).

Há relado de casos descritos na literatura de cães infectados por *L. amazonenses*, que é originalmente LT, mas que apresentavam sinais viscerais da doença, cogitando-se a possibilidade de infecção concomitante com *L. chagasi* ou que a *L. amazonensis* apresentou aspecto clínico visceral da leishmaniose em cães, dependendo da região endêmica. (HOFFMANN et. al., 2012).

As infecções por Leishmaniose, sistematicamente, evolui para os estados latentes ou patentes que, em períodos variáveis de semanas, meses ou até mesmo anos, podem evoluir para as formas agudas, subagudas, crônicas ou regressivas (BORDONI, 2014).

3.4.2 Incubação

O período de incubação da doença é bastante variável, tanto em humanos quanto em cães, considerando no homem a tegumentar em média de 2 a 3 meses, podendo ser curto, de 2 semanas ou longo de dois anos, enquanto que na visceral no homem varia de 10 dias a 24 meses, em uma média de 2 a 6 meses, nos cães de 3 meses até anos, com média de 3 a 7 meses (BORDONI, 2014 *apud* BRASIL, 2006; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017; SECRETARIA DE ESTADO DA SAUDE, 2018), além da difícil determinação devem ser levados em conta fatores individuais relacionados à resposta imune do hospedeiro (SILVA, 2007).

3.4.3 Resposta imunológica

A maioria dos cães infectados tende a desenvolver imunidade celular específica positiva, expressa na forma de proliferação de linfócitos estimulados por antígeno de *Leishmania* no início da infecção, com a progressão da doença em cães suscetíveis, essas respostas diminuem, além a destruição intracelular dos parasitos por neutrófilos, monócitos ser linfócitos e leucócitos estarem comprometidos mostrando-se alterados durante a doença (FREITAS *et. al.*, 2010).

A resposta imune inata ou inespecífica constitui a primeira linha de defesa com a qual enfrenta os parasitos *Leishmania* quando entram em hospedeiro suscetível. Segundo Grenne (2015), em modelo experimental com camundongos infectados com *Leishmania major*, mostrou o desenvolvimento de respostas imunes específicas através das células T auxiliares (Th; do inglês *T helper*) tipo 2 (Th2), que resulta na secreção de citocinas específicas, como interleucina (IL)4 e IL10 e na produção de uma resposta humoral significativa. Outras cepas, todavia, também respondem com um diferente conjunto de citocinas, interferona (IFN)γ e IL12, que são respostas

do tipo 1 (Th1), resistentes à infecção. A IFNγ secretada pelas células T ativa os macrófagos para a eliminação dos parasitos, ou seja, o tipo 1 de resposta de célula Th produz resistência ou cura, enquanto o segundo tipo produz suscetibilidade à doença. Assim, o equilíbrio das respostas é considerado importante para controle da replicação dos parasitos, progressão da doença ou até mesmo a cura, para LC. Experimentos em murinos para LV, foi observado o equilíbrio entre as Th1 e Th2 (SILVA, 2007 *apud* ROGERS et al., 2002). Assim, a leishmaniose canina, é uma infecção caracterizada com resposta polarizada, visto que cães com infecção crônica, seja natural ou experimental, podem apresentar sintomatologia especifica, com doença progressiva e fatal ou serem assintomáticos, apresentando resistência a infecção (SILVA, 2007 *apud* PINELLI et al., 1994).

3.5 Prevalência e fatores de risco

Segundo Green (2015) a doença clínica apresenta em duas faixas etárias: uma em cães jovens de 2 a 4 anos de idade e outra por animais adultos de mais de 7 anos de idade. Há dados que relatam a prevalência da doença em raças de cães, incluindo Boxer, Cocker Spaniel, Rottweiller e Pastor alemão, assim como se tem raças que evoluíram em áreas endêmicas, como o Ibiza Hound, devido a imunidade celular protetora. Animais de até três anos e cães idosos, são apontados como mais suscetíveis à infecção. Quanto ao sexo, autores relataram que machos são acometidos com maior frequência (BETTIO, 2017).

Outros fatores relacionados ao riscos estão relacionados com a epidemiologia da Leishamania no qual foram observados que variam entre regiões endêmicas aonde em certas regiões o cão não desempenhe papel significativo, no entanto em outras localidades, pode atuar como reservatório secundário ou como amplificador da infecção, mantendo a parasitose em áreas de peri e intradomicilio. Em humanos os riscos maiores são em serem adquiridas por crianças menores de cinco anos de idade. Os maiores riscos de morbidade ocorre com crianças de menores de um ano e adultos maiores de cinquenta anos (HEUSSER JR., 2010).

A importância da Leishmaniose no contexto da saúde pública, aumenta conforme à modificação de suas características epidemiológicas, que é extremamente complexa e pode ser modificada por mudanças em qualquer posição no ciclo vetor-reservatório homem. O desmatamento e a urbanização são exemplos de alterações que são seguidas por mudanças, seja nos vetores como nos parasitas. (GAMA *et. al.*, 2009 *apud* MARZOCHI *et al.*, 1997; RODRIGUES et al., 2018), as mesmas poderiam ocasionalmente possibilitar a ocorrência de outros ciclos de transmissão, levando ao aumento de predominância espécies antropofílicas de

vetores, por exemplo, ocorrendo de forma endêmico-epidêmica apresentando diferentes padrões de transmissão (GAMA *et al.*, 2009 *apud* REIS, 2008).

3.6 Diagnóstico da Leishmaniose

Existe uma grande variação de sinais clínicos semelhantes da LV e LT, assim como semelhança desses sinais clínicos com outras doenças e grande número de animais infectados assintomáticos. Dessa forma, é importante associar o histórico do animal ao exame clínico e detalhado do mesmo, realizando exames laboratoriais e parasitológicos específicos para confirmar a infecção e seu prognóstico. Como não existe métodos de diagnósticos que seja 100% específico para a Leishmaniose faz-se necessário a realização de vários métodos aumentado a sensibilidade e especificidade, diminuindo os falsos positivos e negativos, sendo o parasitológico o mais específico (Figura 7), já que o mesmo observa o parasita no tecido do hospedeiro, contribuindo no controle da doença (SILVA, 2007; QUEIROZ et. al., 2010; LEAL, 2009; BETTIO, 2017).

3.6.1 Diagnóstico Clínico

A leishmaniose é uma doença infecciona, e de acordo com o ciclo de transmissão, zoonótico ou antroponótico, apresenta diferentes manifestações clínicas (DESJEUX, 2004). O parasitismo, nos cães, podem ser abundante nas vísceras e na derme, porém há cães infectados que permanecem sem sinais clínicos por um longo período de tempo, servindo como reservatório para o vetor (ABRANTES et al., 2018).

Duas formas clínicas são conhecidas: a leishmaniose visceral caracterizada, por apatia, perda de peso, alopecia, hepato-esplenomegalia, linfadenopatia, complicações renais e sistêmicas. A tegumentar, que podem produzir manifestações com lesões mucocutâneas, formação de úlceras de fundo granulomatoso e bordas salientes de difícil cicatrização (FREITAS *et al.*, 2010; RODRIGUES, 2018).

Dessa forma, a leishmaniose canina é fundamentalmente uma doença sistêmica crônica, que pode acometer de modo potencial qualquer órgão, tecido e líquido biológico, e se manifesta em numerosos sinais clínicos (GREENE, 2015).

Segundo Silva (2007), em áreas endêmicas, cães infectados naturalmente por *Leishmania* spp, apresentando sintomatologia variada (assintomáticos, oligosintomaticos e polisintomaticos), baseado em estudos, demonstrou-se que cães assintomáticos podem apresentar acentuado parasitismo principalmente nos linfonodos quando comparados com animais oligo e

sintomáticos.

A coexistência da leishmaniose com outras doenças extenso, como doenças infecciosas, parasitoses, imunomediadas, endocrinopatias e neoplasias, que pode ocorrer de forma secundária causada pela Leishmania ou o inverso, por isso é importante investigar as alterações clínicas e laboratoriais (HOFFMANN et. al., 2012 apud SARIDOMICHELAKIS, 2009).

3.6.2 Diagnóstico Sorológico

O diagnóstico sorológicas tem o objetivo de detectar anticorpos específicos anti-Leishmania (BETTIO, 2017), circulantes em que os animais doentes desenvolvem resposta imune humoral e produzem títulos de IgG (GONÇALVES, 2014 *apud* PORTO, 2010).

No Brasil, durante alguns anos, as técnicas recomendada pelo o Ministério da Saúde eram o método de imuno-ensaio enzimático (ELISA), para o diagnóstico de Leishmaniose e para a confirmação, deve ser feito o segundo exame que é de a imuno-florescência indireta (RIFI) no qual identificam a presença de anticorpos específicos, devido à alta sensibilidade e especificidade da infecção por *Leishmania* spp. (GONTIJO *et. al.*, 2011; RODRIGUES, 2018; SOCCOL, 2015).

Como a maioria dos teste utiliza antígenos de promastigotas obtidas em culturas, pode comprometer a especificidade devido as possíveis reações cruzadas com outras certas doenças como doença de Chagas, erliquiose, toxoplasmose e neosporose, e assim, originar falso-positivo (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006; BETTIO, 2017), os falso-negativos podem acontecer em cães com a infecção já estabelecida a alguns meses que apresentem baixos níveis detectáveis de anticorpos circulantes no sangue (BETTIO, 2017). Isso ocorre uma vez que soroconversão leva aproximadamente três meses após a infecção no qual os títulos permanecem elevados por, pelo menos, dois anos, por isso esses testes sorológicos podem falhar, por exemplo, em cães infectados no período pré-patente e antes da soroconversão (SCHIMMING et al., 2012), ou seja, a sorologia negativa não descarta a infecção.

Atualmente, o MS (Ministério da Saúde) recomenda o teste imunocromatográfico denominado teste rápido *dual path platform* (DPP) para exame de triagem, e o ELISA como exame confirmatório. Este protocolo vem sendo implantado desde 2012 é caracterizado por ser rápido, com resultado de 15 minutos após a coleta da amostra biológica (soro, plasma e sangue total) e não requer pessoa especializada para sua execução. Além disso, seu uso permite que o diagnóstico seja realizado na casa do cuidador do cão, sem necessidade de estrutura laboratorial e equipamentos (GONÇALVES, 2014).

Portanto, a sorologia para a detecção de anticorpos é uma ferramenta de diagnóstico

importante para a infecção por *L. infantum*, devido aos altos níveis de anticorpos induzidos, que difere das infecções por *L. amazonensis e L. braziliensis* que produzem níveis mais baixos de anticorpos (RODRGUES *et al.*, 2018 *apud* LIMA *et al.*, 2016). Como os exames sorológicos indicam apenas que o hospedeiro entrou em contato com o parasito seria importante realizar o exame parasitológico, pois é considerada padrão ouro. (SOCCOL, 2015).

3.6.3 Diagnóstico Parasitológico

O exame parasitológico é considerado o teste ouro para o diagnóstico da leishmaniose, devido a maior sensibilidade em comparação com os outros tecidos biológicos no qual podem se identificar formas amastigotas do parasita de *Leishmania sp.* em diferentes amostras através esfregaços sanguíneos e linfonodo, medula óssea, aspirado esplênico, swab conjuntival e exame histopatológico. Porém, são métodos invasivos, apresentando riscos ao paciente, frisando que a sensibilidade depende do grau de parasitismo, do tipo de amostra coletada e do tempo de leitura da lâmina (DESJEUX, 2004; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006; PORTO, 2010).

Dessa forma, pode levar a resultados inconclusivos, principalmente na análise de amostras de animais com poucas manifestações clínicas, para se obter maior confiabilidade neste método, são realizadas coletas de amostras feitas em diferentes tecidos (BETTIO, 2017). A técnica se baseia na demonstração do parasito na amostra colhida por meio do exame direto (observação microscópica em esfregaços) ou indireto (observação pós cultivo em meio de cultura ou pela infecção experimental de hamsters em laboratório) (GONÇALVES, 2014).

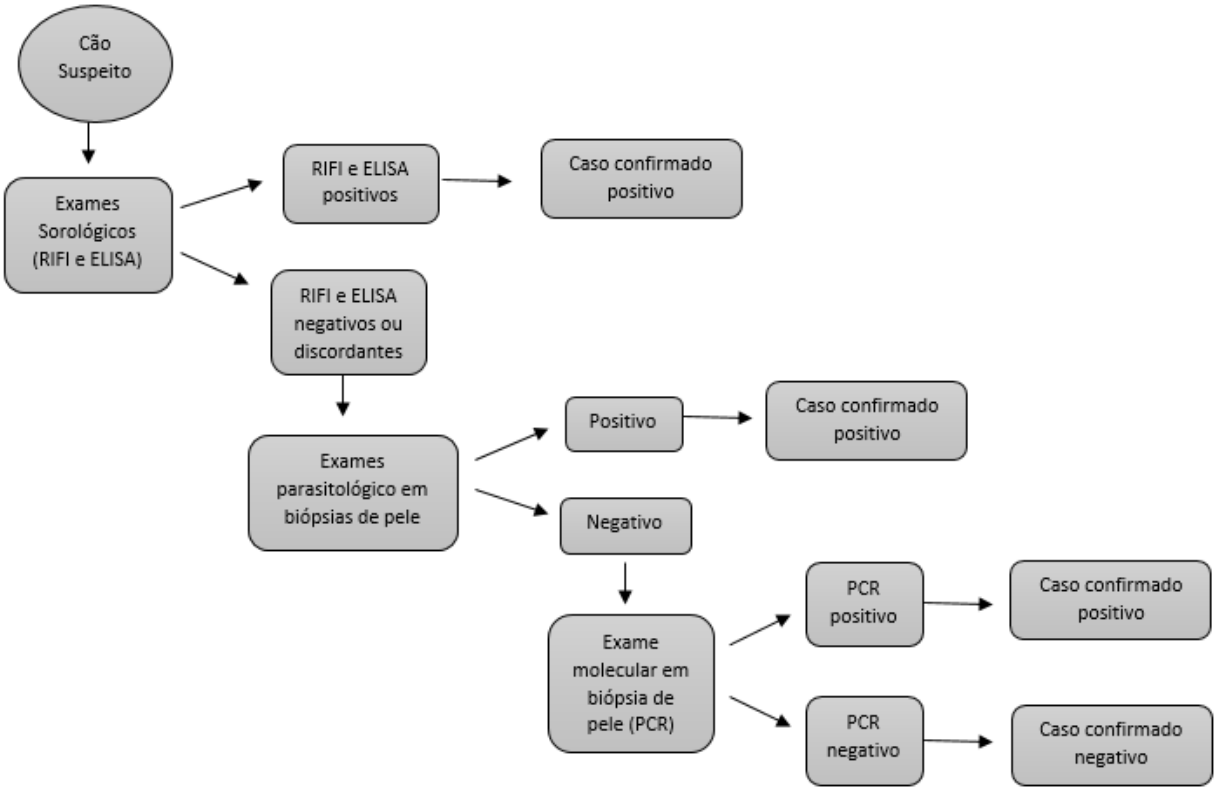
3.6.4 Diagnóstico Molecular

O desenvolvimento de ferramentas moleculares contribui para a realização de estudos taxonômicos e epidemiológicos destes parasitos de forma segura (LIMA, 2010). Entre as técnicas moleculares mais empregadas está a de PCR (Polymerase Chain Reaction) que é utilizada na identificação de gênero e espécie, ampliando seletivamente sequencias de DNA do parasito, quando empregados indicadores nas amostras, proveniente de variedade de tecidos (BETTIO, 2017 apud BERRAHAL *et al*., 1996; CUPOLILLO, 2006), incluindo a medula óssea, biópsias cutâneas, aspirados de linfonodos, sangue, cortes histológicos e também o vetor, no qual é possível verificar a variabilidade das espécies de *Leishmania* spp.

A técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR), baseada na detecção de ácidos nucléicos com o uso de primes de rRNA, é utilizada além para do diagnóstico da doença, o monitoramento de pacientes durante e após o tratamento. Dessa forma apresenta também como

vantagem além da alta sensibilidade e especificidade, incluindo tecidos de animais nos quais ainda não ocorreu a soroconversão de cães assintomáticos (GONÇALVES, 2014), podendo ainda quantificar a quantidade de parasitas no animal, sendo estes rápidos quando comparados com outras provas. A principal desvantagem das técnicas moleculares é que estas requerem laboratórios bem equipados e habilidade técnica (RODRIGUES, 2018; SOCCOL, 2015).

Figura 7 – Sequência de procedimentos diagnósticos, demonstram a associação das técnicas para aumentar os níveis de positividade.



Fonte: QUEIROZ, 2010 (Adaptado, 2019)

3.7 Controle e Profilaxia

A Leishmaniose é uma doença considerada potencialmente letal para os humanos caso não tratada. Devido as características epidemiológicas e o conhecimento ainda insuficiente sobre os vários elementos que compõem a cadeia de transmissão da LV no Brasil, associado a questões de ordem operacional, as estratégias de controle desta endemia têm se mostrado pouco efetivas. (SILVA, 2007; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2004). Para isso, o Ministério da Saúde apresenta, programas de controle que estão direcionados à eliminação dos reservatórios caninos e os vetores, no qual tem sido bastante discutido, uma vez que o tratamento da leishmaniose não é preconizado pelo Ministério da Saúde, que recomenda a eutanásia dos animais infectados para o

controle da doença. No entanto, muitas clínicas veterinárias tratam os animais, resguardadas de ação liminar judicial, com a associação de drogas a base de alopurinol e anfotericina B, para cães com LV (GONTIJO, et. al., 2011; SCHIMMING, et. al., 2012). Outras medidas de controle são realizadas pelo Ministério da Saúde para a redução das taxas de morbidade da LV em caso humanos, através de estratégias de ação como o diagnóstico e o tratamento precoce dos casos humanos, e atividades de educação em saúde (SCHIMMING, *et. al.*, 2012; GONÇALVES, 2014).

Quanto a LT, ainda não há confirmação dos cães domésticos, para serem fonte de infecção para os humanos, por isso é questionável a eutanásia dos mesmos como forma de controle, tanto que o Ministério da Saúde indica a eutanásia dos animais doentes quando as lesões evoluírem para o agravamento das afecções cutâneas, com surgimento de lesões mucosas e infecções secundárias que conduzirão o animal ao sofrimento. Dessa forma, medidas profiláticas devem ser tomadas para evitar o surgimento de qualquer forma da leishmaniose, e nisso abrange três pontos importantes: controle ambiental e individual, controle de animais doentes/eutanásia e controle do vetor (GONTIJO, et. al., 2011).

3.7.1 Controle dos reservatórios

O controle da população dos reservatórios domésticos é realizada mediante identificação e eutanásia dos cães positivos, o que gera inúmeras controvérsias, pela a falta de consenso entre os pesquisadores com relação a eficácia na redução da doença humana e devido à oposição desta medida por parte dos proprietários dos animais, dos clínicos veterinários e das organizações de proteção animal (GONÇALVES, 2014).

Estudos apontam que a remoção de cães soropositivos pode gerar um efeito contrário no controle da LV, pois uma proporção desses cães infectados pode nunca se tornar infecciosa, mas estes animais podem ser substituídos por cachorros susceptíveis à infecção (MACHADO et. al., 2016).

No Brasil, em 1997, a Associação Nacional de Clínicos Veterinários de Pequenos Animais (ANCLIVEPA), embasada em encontros, simpósios e conferências com pesquisadores internacionais, literatura científica, debates com a sociedade e seus associados, declarou através de um comunicado em seu periódico Boletim da ANCLIVEPA, sua adesão e a recomendação de protocolos de tratamento para a LVC. Em 2002, a ANCLIVEPA Nacional, referendou esta recomendação, em comunicado distribuído às associações regionais de todo o país, visando suprir o ônus emocional dos proprietários causado pela eutanásia dos seus cães (SILVA, 2007

apud RIBEIRO, 2006). Em 2016, MAPA, deferiu o registro odo fármaco Miltefosina, utilizado para tratamento do cães com LV, uma vez que o uso de medicamentos humanos não podem ser usados em tratamentos em caninos, visando a resistência do mesmo.

Visando, portanto, a proteção do animal, é recomendado a utilização de coleiras com deltametrina 4%, fazendo-se a troca em cada 6 meses; limpeza do ambiente dos canis, retirando o excesso de matéria orgânica; e evitar passeios crepusculares ou noturnos, horário de maior atividade do flebotomíneo (GONTIJO, et. al., 2011).

3.7.2 Controle dos vetores biológicos

O controle vetorial, pode ser realizado mediante controle químico com aplicação de inseticidas de ação residual, como a cipermetrina e a deltametrina mensalmente nos canis, no qual é uma ação dirigida apenas para o inseto adulto e tem como objetivo evitar e/ou reduzir o contato entre o inseto transmissor e a população humana (BRASIL, 2006) e plantio de citronela e/ou neem, nos jardins, já que estas possuem ação repelente em insetos (GONTIJO, et. al., 2011).

As medidas ambientais também visam o controle do vetor através da limpeza de quintais e terrenos, alterando assim, as condições que proporcionem o estabelecimento de criadouros de formas imaturas do vetor; poda de árvores, visando aumentar a insolação sobre o solo, o que reduziria as condições favoráveis, de temperatura e umidade, para o desenvolvimento de larvas dos flebotomíneos; e destino adequado do lixo orgânico, a fim de impedir a aproximação de reservatórios silvestres, como marsupiais e roedores, prováveis fonte de infecções para os flebotomíneos (GONTIJO, et. al., 2011).

3.7.3 Imunoprofilaxia

Não se tem um tratamento eficaz e nem profilático para o cão. No entanto, a imunoprofilaxia parece ser uma nova estratégia de controle da LVC, restando conhecer mais sobre a resposta imunológica dos animais susceptíveis e resistentes a infecção (SILVA, 2007). Existe uma vacina contra a LVC, chamada Leishmune, registrada no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), sem constatação de seu custo-benefício e efetividade para o controle de reservatório da leishmaniose visceral canina em programas de saúde pública (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007).

A vacinação para LV, compreende a aplicação de três doses, respeitando-se um intervalo de 21 dias entre elas. Como a proteção só ocorre após a aplicação da última dose, neste intervalo o cão ainda pode ser infectado, visto que o período de incubação da enfermidade é em média dois

a cinco meses. A revacinação deverá ser feita um ano após a primeira dose repetida anualmente, proporcionando a manutenção da resposta imune (FOGANHOLI et. al., 2011).

Com relação a utilização da vacina para a Leishmaniose Tegumentar Americana, quer para imunoprofilaxia quer para imunoterapia, em virtude dos resultados apresentados até o momento não serem conclusivos, sua utilização no território nacional, no campo, fica condicionada à demonstração da eficácia pelas pesquisas em andamento (GONÇALVES, 2014; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2000).

3.8 Vigilância Epidemiológica da Leishmaniose

A vigilância epidemiológica em âmbito geral é um dos componentes de controle da Leishmaniose Visceral bem como da Leishmaniose Tegumentar, cujos objetivos são reduzir as taxas de letalidade, grau de morbidade e deformidade através do diagnóstico e tratamento precoce dos casos, diminuindo os riscos de transmissão mediante controle da população de reservatórios e do agente transmissor.

Deve-se realizar uma análise da situação epidemiológica de cada região considerada endêmica, através dos indicadores da doença, para que se possa operar ações de prevenção e controle a serem adotadas. Dentre os objetivos descritas pelo Ministério da Saúde (2000, 2006, 2017), destacam-se:

- Realizar o diagnóstico e o tratamento adequados e oportunos dos casos humanos de LV e LT;
- Identificar as áreas vulneráveis e/ou receptivas para transmissão da Leishmaniose;
- Avaliar a autoctonia referente ao município de residência;
- Investigar o local provável de infecção (LPI);
- Conhecer a presença, a distribuição e monitorar a dispersão do vetor;
- Dar condições para que os profissionais da rede de saúde possam diagnosticar e tratar precocemente os casos;
- Dar condições para realização do diagnóstico e adoção de medidas preventivas, de controle e destino adequado do reservatório canino;
- Investigar todos os supostos óbitos de LV e LT;
- Monitorar a tendência da endemia, considerando a distribuição no tempo e no espaço;
- Indicar as ações de prevenção de acordo com a situação epidemiológica;
- Desencadear e avaliar o impacto das ações de controle;
- Monitorar os eventos adversos aos medicamentos;

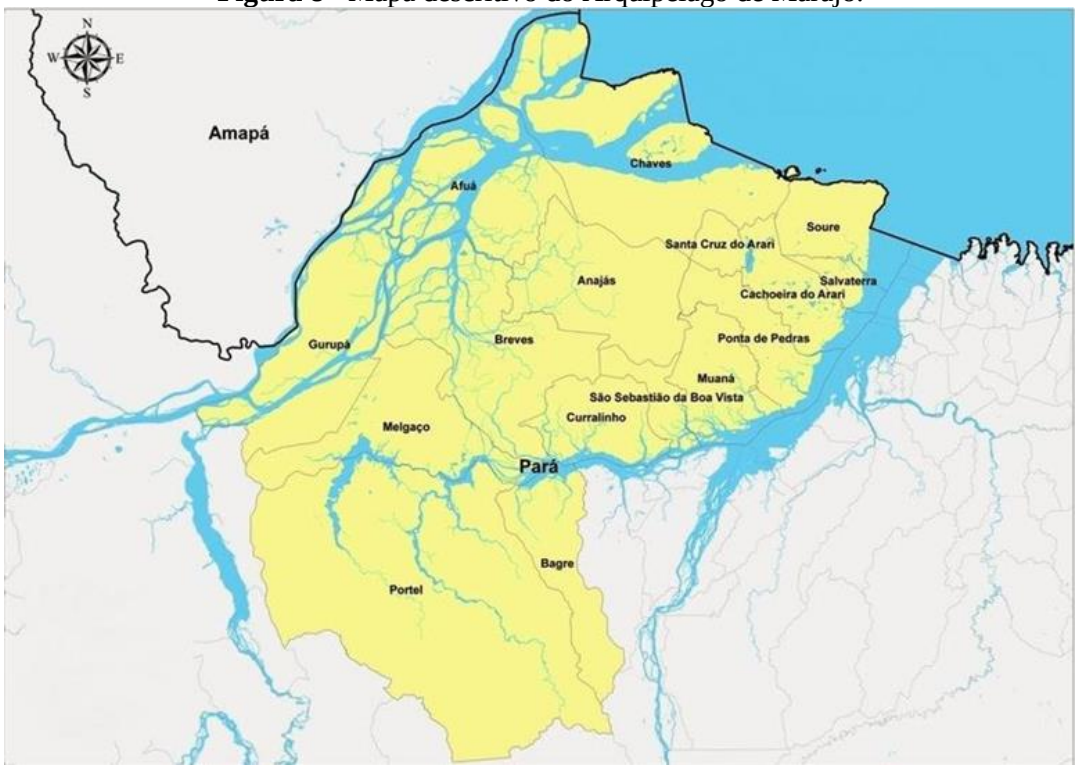
- Reduzir o contato dos hospedeiros suscetíveis com o vetor;
- Vigilância entomológica e controle vetorial;
- Promoção de ações de educação em saúde junto à população.

Esta última medida, por sua vez, são de suma importância no controle da enfermidade, devendo-se considerar os aspectos sociais e culturais de cada comunidade, para garantir a compreensão e o seu envolvimento nas ações de vigilância e controle da nos seus vários aspectos (JULIÃO, 2004), com a realização de campanhas de conscientização, palestras e distribuição de panfletos, divulgando à população sobre a ocorrência do tipo de Leishmaniose na região, alertando sobre os sinais clínicos e a importância da adoção de medidas preventivas (GONÇALVES, 2014), requerendo assim, o envolvimento mais efetivo entre a população e órgãos públicos, visando desta forma, a saúde humana e animal (GONTIJO, et. al., 2011).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizado um estudo retrospectivo transversal descritivo de cães residentes no município de Soure, Arquipélago do Marajó (Figura 7), Estado do Pará, na Região Norte do Brasil (00º43'00" S e 48º31'24" O), no período de janeiro de 2018 a julho de 2019. O município possui uma população estimada de 25.181 habitantes em 2018, distribuídos em uma área de 3 517,318 Km², dividido em dois distritos: Soure (sede) e Pesqueiro. O distrito-sede que foi realizado a pesquisa, é dividido em oito bairros: Centro (que é o principal bairro da cidade), São Pedro, Matinha, Umirizal, Pacoval, Bairro Novo, Tucumanduba e Macaxeira, porém 4 bairros são utilizados na pesquisa: Centro, São Pedro, Umirizal e Novo. Há também, relatos de casos advindos de regiões circunvizinhas como Salvaterra e Cachoeira do Arari.

Figura 8 - Mapa descritivo do Arquipélago de Marajó.



Fonte: Sistema de Informações Territoriais – SIT, o MDA (BRASIL, 2016).

Em estudo, foram analisados exames laboratoriais de 17 animais, provenientes do município. Os animais amostrados foram diagnosticados com leishmaniose através da técnica da PCR, realizados pelo Laboratório de Tecnologia Biomolecular do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, devido à suspeita clínica ou outro motivo levantado pela médica veterinária que os acompanha no município de Soure (Médica Veterinária, Kelly Albuquerque).

Através dos resultados positivos destes cães, as seguintes variáveis foram levantadas, colocadas em ficha epidemiológica (ver anexo): sexo, raça, idade, motivo do exame, material biológico positivo e bairro de procedência e desfecho da doença. O sexo dos animais foram agrupados em machos e fêmeas. A raça foi agrupada em sem raça definida (SRD) e outras raças. Quanto à idade, os cães foram agrupados nas seguintes faixa-etárias: até 1 ano, de 1 a 3 anos, 3 a 5 anos e acima de 5 anos. Os motivos para a realização do exame molecular foram definidos como: prevenção (investigar o estado do animal), iniciar a vacinação (recomendado pelo veterinário que os atendeu) e suspeita clínica (quando o animal apresentava sinais clínicos sugestivo de leishmaniose), ao qual foram divididos em assintomáticos (animais que não demonstravam nenhum sinal clínico aparente), oligossintomáticos (animais que apresentavam, pelo menos um sinal clínico característico da enfermidade) e sintomáticos (animais que apresentavam mais de uma sintomatologia).

Foi empregada estatística descritiva simples nos dados encontrados em cada variável, através do encontro das frequências absolutas e relativas, a partir das quais foi possível descrever, tabular e representar em formatos de tabelas elaborados a partir de planilhas disponíveis no software Microsoft Excel® e mapa adaptado através do GIMP, programa de manipulação de imagens.

5. RESULTADOS E DISCURSÃO

O diagnóstico de uma enfermidade como a Leishmaniose requer o uso de métodos que possam, de maneira segura e confiável, identificar os indivíduos infectados (LEAL, 2009). Como na rotina dos serviços não costuma haver disponibilidade de exames laboratoriais capazes de identificar espécies de *Leishmania*, as recomendações deverão se basear nas evidencias preexistentes sobre circulação do parasito no local provável de infecção (MINISTÈRIO DA SAÚDE, 2017). No presente estudo, 17 cães realizaram exames de PCR, destes, 14 animais apresentava positividade para *Leishmania* spp., e tiveram como motivos, para confirmação do protozoário: iniciar a vacinação (7,14); prevenir contra a Leishmaniose (57,14); e a suspeita clínica (35,71), uma vez que se tratava de uma área endêmica para a doença (Tabela 2).

Na pesquisa, foram realizados o diagnóstico molecular através de amostras de sangue total, suabe ocular e nasal em todos os animais, resultando 82,35% de positividade nas amostras, para PCR (Tabela 2). Estudos demostraram que através dessa técnica é possível detectar parasitas semanas até mesmo antes do aparecimento dos sinais, sendo assim, podendo ser detectada em indivíduos assintomáticos, (CUPOLILLO, 2006; BETTIO, 2017) devido à alta sensibilidade do exame por meio da diversidade de tipos de amostras biológicas como o sangue, raspados cutâneos, baço, cortes histológicos de tecidos parafinados, vetores, aspirados de medula óssea ou linfonodos, biópsias de pele, urina, dentre outros (SILVA 2007; GONÇALVES, 2014). Apesar do PCR no sangue total ser menos sensível que aquela realizada nos tecidos anteriormente mencionados, a PCR conjuntival e nasal não invasiva demonstra ser produtiva no diagnóstico de cães soropositivos com leishmaniose clínica (GREENE, 2015).

Dos animais positivos, 50% eram assintomáticos (Tabela 2), de forma semelhante a outros autores que através de exames de pele, independente do aparecimento ou não de lesões, apresentaram positividade no PCR, essa observação indica que o número de parasitas devia ser muito baixo e de difícil identificação, o que indica que os anticorpos estariam no início da infecção antes da soroconversão. Outros estudos mostraram uma grande variação no período de soroconversão em cães naturalmente infectados de 94 dias até um ano (QUEIROZ et al., 2010; SOLANO-GALLEGO et al., 2004; GREEENE, 2015), esses animais não tiveram nenhum tratamento e apenas um morreu.

Um cão soropositivo apresentou onicogrifose (Figura 8: A), uma vez que a onicogrifose é considerado um sinal patognomônico para leishmaniose visceral (QUEIROZ et. al., 2010). A causa seria por estimulação da matriz ungueal e a redução dos movimentos devido à apatia que

impede o desgaste natural das unhas. Outro cão apresentou apenas lesão peri ocular descamativa persistente. As repercussões oftálmicas frequentemente descritas, aparecerem comumente de maneira simultânea com sinais sistêmicos, mas podem ocorrer de modo mais raro, como primeira ou única manifestação da doença. Autores descrevem que cerca de 15% dos cães infectados desenvolvem apenas sinais oculares sem envolvimento sistêmico (BETTIO, 2017). Estes animais considerados oligossintomáticos (14,28), não fizeram tratamento, nesse último o proprietário optou pela eutanásia.

Dos cães sintomáticos 5/5 (Tabela 2), manifestavam perda de peso apesar do apetite voraz (Figura 8: B), alopercia, descamação da pele e lesão peri ocular (Figura 8: C), entre estes animais, dois casos tiveram destaque: um animal apresentou infecção combinada por *Ehrlichia*, que levaram a anormalidades clínico patológicas como lesão na articulação da tíbia (GREENE, 2015); outro animal que apresentava além dos sintomas já citados, sinais mais graves da doença (Figura 8) como uveíte, apatia, regressão muscular, linfadenomegalia, esplenomegalia e hepatomegalia à palpação (Figura 8: D), ao qual levou a falência renal e o animal veio a óbito, mesmo com tratamento. Esse sinais e sintomas estão correlacionados às formas clínicas das Leishmanioses (FREITAS et al., 2010; GREENE, 2015). Os demais animais sintomáticos também passaram por tratamento, apenas um foi eutanasiado.

Figura 9 - Buldogue Frances, no município de Soure apresentando sinais graves da Leishmaniose. A) Observação de onicogrifose, sintomatologia característica da doença; B) animal apresentando apatia, perda de peso, regressão muscular e alopecia; C) lesão peri ocular, com presença de uveite; D) região abdominal distendida, características observadas de linfadenomegalia, esplenomegalia e hepatomegalia.

Fonte: Arquivo pessoal (2019).

Segundo Gontijo & Melo (2004) relatam não haver predisposição etária, sexual ou racial quanto à infecção por *Leishmania* em cães. Porém autores relataram que machos são acometidos com maior frequência (MEDEIROS *et. al.*, 2008; BETTIO, 2017), no presente estudo foi observado um diferença de 2 animais da quantidade de machos infectados a mais em relação as fêmeas (Tabela 2).

A faixa etária mais frequente foi de animais com idade de 1 a 3 anos, sendo estes mais susceptíveis a infecção devido à resistência do animal e cães acima de 5 anos (Tabela 2), concordando com outros autores que afirmam ser mais descrita em cães adultos devido ao longo período de incubação do parasito, sendo em média de dois meses e o maior tempo de exposição ao vetor que o animal tem, (ALMEIDA *et al.*, 2010; GÁLLEGO, 2004; GREENE, 2015; BETTIO, 2017), porém, cães, independentemente da idade, têm a mesma probabilidade de contrair leishmaniose (ALMEIDA *et al.*, 2010).

Tabela 2- Frequências absoluta e relativa de cães com leishmaniose, do município de Soure, conforme as variáveis sexo, idade, sinais clínicos e raça, no período de janeiro de 2018 a julho de 2019.

	Variável	**Nº de cães examinados**	**Positivos (%)**
PCR	Sangue total Suabe Ocular Suabe Nasal	17	14 (82,35)
Motivo	Iniciar vacinação	3	1 (7,14)
	Prevenção	9	8 (57,14)
	Suspeita Clínica	5	5 (35,71)
Sexo	Macho	9	8 (57,17)
	Fêmea	8	6 (42,58)
Idade	Até 1 ano	3	2 (14,28)
	1 a 3 anos	6	5 (35,71)
	3 a 5 anos	3	3 (21,42)
	Acima de 5 anos	5	4 (28, 57)
Sinais Clínicos	Assintomático	10	7 (50)
	Oligossintomático	2	2 (14,28)
	Sintomático	5	5 (35,71)
Raças	SRD*	12	11 (78,57)
	Rottweiler	2	1 (7,14)
	Pitbull	1	0 (0)
	Buldogue	2	1 (7,14)
	Labrador	1	1 (7,14)

sem raça definida

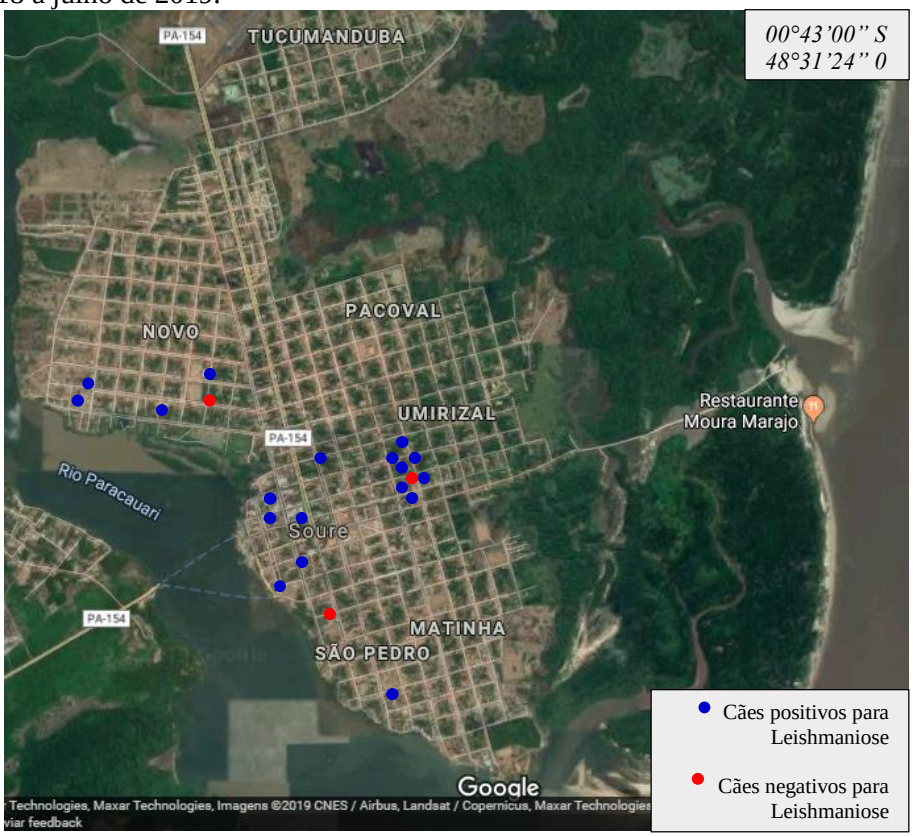
Quanto à distribuição racial observada neste estudo (Tabela 2), os cães examinados e infectados em sua maioria eram sem raça definida (78,5%), mesmo que todos os cães sejam susceptíveis à infecção por Leishmaniose, há dados associado a maior frequência de casos em cães de porte grande, pois estes têm a finalidade de guarda (ALMEIDA et. al., 2010; FEITOSA

et al., 2000; GREENE, 2015) desse modo, animais que habitam ambiente peridomiciliar ficam assim mais expostos ao vetor.

Nenhum dos animais em estudos, inclusive os que apresentaram diagnóstico negativo para leishmaniose, foram vacinadas, uma vez que não realizaram o exame sorológico obrigatório previamente à vacinação, para saber além da positividade e o diagnóstico correto da espécie *Leishmania* spp. Estudos comprovaram que a imunização de cães pode ajudar a reduzir significativamente o número de casos, e até erradicá-los (FOGANHOLI et. al., 2011).

Com os dados obtidos em cada consulta, foi possível identificar a distribuição espacial dos cães examinados e domiciliados na cidade de Soure (Figura 9) onde a maioria de animais endêmicos para Leishmaniose estão concentrados no bairro do Umirizal (50%). A observação de outros cães infectados nos outros bairros circunvizinhos como São Pedro (21,42%), Centro (14,28%) e Novo (14,28%), evidência a importância do trânsito livre de animais na disseminação do agente, bem como do rastreamento dos casos importante para no controle e a prevenção da doença (JULIÃO et al.,2007; ALMEIDA et. al., 2010).

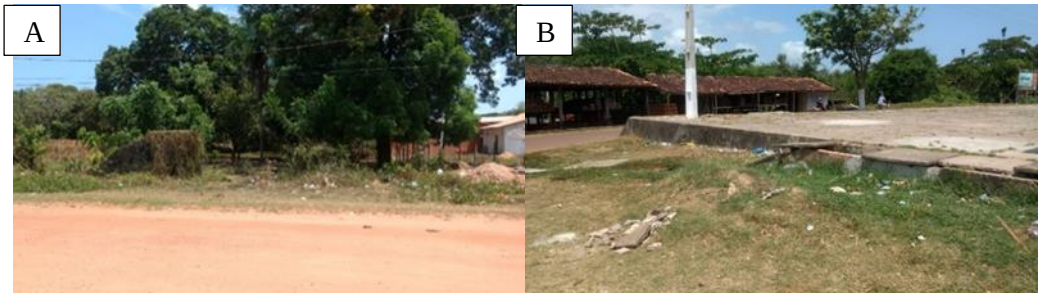
Figura 10 - Distribuição espacial dos casos caninos de leishmaniose na cidade de Soure, Pará, período de janeiro de 2018 a julho de 2019.



Fonte: Google Maps (Adaptado, 2019)

De acordo com os dados obtidos, os cães infectados viviam em ambiente urbano, com acesso esporádico à zona rural, uma vez que o município apresentava áreas contiguas à mata remanescente com presença de terrenos baldios, em pontos focais, identificando fatores de riscos como representatividade das características urbanística da região (Figura 10: A). Também é registrado, locais de periferia não tão distantes das áreas endêmicas, decorrente da ocupação por áreas de loteamentos, provocando a destruição de ecótopos silvestres, que contribuem para a instalação da Leishmaniose (GONTIJO & MELO, 2004). Devido a esse processo de urbanização do município, é constado o desenvolvimento da doença semelhantemente às observações de ALMEIDA et al. (2009), vista em outros municípios brasileiros (GAMA *et. al.,* 2009; RODRIGUES *et al.,* 2018).

Figura 11 - A) Bairro do Umirizal, terreno baldio área de mata remanescente e com presença de lixo nas ruas, não pavimentadas de Soure; B) Bairro Centro, presença de lixo ao lado do Mercado Municipal de Soure.



Fonte: Arquivo pessoal (2019)

A importância de áreas com vegetação remanescente na periferia das cidades é aspecto relatado em várias pesquisas como determinante para ocorrência da infecção, em virtude de ambiente rico em matéria orgânica propício para manutenção do vetor (ALMEIDA et. al., 2010). A cidade como um todo apresenta algumas áreas de relativa falta na infraestrutura higiênico-sanitária, com lixão depositado (durante anos) a céu aberto em uma área próximo ao Bairro do Tucumanduba, expondo os moradores da comunidade de Pedral, a diversos riscos de saúde e agredindo conscientemente o ambiente local (Figura 11).

Figura 12 - Lixão a céu aberto do município de Soure

Fonte: https://www.flickr.com/photos/marysoure/albums/72157626901345882/ (por: MALCHER, Milena)

Fazendo-se uma análise em contexto geral é notado que o acesso à informação sobre as leishmanioses, assim como a procura por assistência veterinária, é restrito (ALMEIDA *et al.*, 2010). Gonçalves (2014) relata que a manutenção/expansão da doença está atrelada a pouca inserção social, ocupações de regiões menos favorecidas, onde se encontram fatores predisponentes à manutenção da doença, como lixo na rua, esgoto e lixo a céu aberto, falta de higiene, etc.

6. CONCLUSÃO

A partir das constatações citadas anteriormente, através dos diagnósticos e os sinais clínicos apresentados pelos animais, conclui-se que a Leishmaniose apresenta em alto índice endêmico com 82,35% positividade dos cães em estudo, o que pode ser considerada como sendo um problema de saúde pública na região, que está em expansão no meio urbano, apontados também através dos bairros: Umirizal, Centro, Novo e São Pedro, encontrando endemismo em 50%, 21,42%, 14,28% e 14,28% nas áreas respectivamente, associados a presença de vegetação e infraestrutura urbana e sanitária da localidade.

O estudo epidemiológico em Soure, portanto, atualizou o conhecimento da prevalência de Leishmaniose de forma mais representativa, uma vez que se fez avaliação de áreas até então não estudadas para esta enfermidade. A distribuição difusa da Leishmaniose canina indica maior risco da doença e demonstra a importância de inquéritos epidemiológicos mais abrangentes no município, além da adoção de medidas eficazes de prevenção.

Dessa forma, é importante orientar a vigilância epidemiológica para esta área, uma vez que a região apresenta um certo tráfego humano e animal uma vez que esta vem sendo considerado, segundo seu desenvolvimento, um importante ponto turístico do Estado do Pará, o que facilita a disseminação do parasito para novas regiões.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRANTES, T. R., WERNECK, G. L., ALMEIDA, A. S., FIGUEIREDO, F. B. Fatores ambientais associados à ocorrência de leishmaniose visceral canina em uma área de recente introdução da doença no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Cad. Saúde Pública 2018; 34(1):e00021117.

ALMEIDA, A.B.P.F. et al. Inquérito soroepidemiológico de leishmaniose canina em áreas endêmicas de Cuiabá, Estado de Mato Grosso. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v.42, n.2, p.156-159, 2009. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822009000200012. Acesso em: 15 set. 2009. doi: 10.1590/S0037-86822009000200012.

BASANO, S. A., CAMARGO, L. M. A. Leishmaniose tegumentar americana: histórico, epidemiologia e perspectivas de controle. Rev. bras. epidemiol. vol.7 no.3 São Paulo Sept. 2004

BETTIO, M., Repercussões Oculares e Perioculares da Leishmaniose Visceral em Cães. Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2017.

BORDONI, G. M. Prevalência, distribuição e identificação de prováveis fatores de risco para Leishmaniose Visceral canina em Camaçari - BA. 113 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa) - Fundação Oswaldo Cruz, Instituto de Pesquisas Gonçalo Moniz, Salvador, 2014.

COSTA, C.H.N. How effective is dog culling in controlling zoonotic visceral leishamniasis? A critical evaluation of the science, politics and ethics behind this public health policy. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v.44, n.2, p.232-242, 2011.

CUPOLILLO, E. Avanços dos estudos moleculares de *Leishmania (Leishmania) chagasi* aplicados ao diagnóstico de LV no Brasil. *In:* Consulta de expertos OPS/OMS sobre leishmaniasis visceral en las Américas, 2005, Brasília. *Informe final de la reunion de expertos OPS/OMS sobre leishmaniasis em las Américas*. Rio de Janeiro: Organización Panamericana de

salud, p. 57-62, 2006.

DEANE, L., M., Instituto Evandro Chagas; 50 anos de contribuição às ciências biológicas e a medicina tropical. Belém, Fundação Serviços de Saúde Pública, 1986, 2v.

DESJEUX, P. Leishmaniasis: Public Health Aspects and Control. Clinics in Dermatology, v. 14, n. 5, p. 417-423, 1996.

FOGANHOLI, J. N., ZAPPA, V. Importância da Leishmaniose na Saúde Pública. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária – ISSN: 1679-7353 Ano IX – Número 17 – Julho de 2011 – Periódicos Semestral.

FREITAS J. C. C., PINHEIRO D. C. S. N., Aspectos celulares e moleculares da resposta imunitária a *Leishmania* spp. Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza-Ceará. Revista Portuguesa de Ciências Veterinária, RPCV (2010),105 (573-576), 11-20, 2010.

GAZZINELLI S., Apostila de Parasitologia. Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG. Minas Gerais, 2011.

GONÇALVES, M. B. Prevalência, Distribuição e Identificação de Prováveis Fatores de Risco Para Leishmaniose Visceral Canina em Camaçari-Ba. Dissertação apresentada ao curso de Pós Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa para obtenção do grau de Mestre. Salvador – Brasil, 2014.

GONTIJO, C.M.F.; MELO, M.N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. Revista brasileira de epidemiologia, 7: 338-349, 2004.

GONTIJO, B.B., PAVÃO, F.F., SILVA, F.S.A., SILVA, F.D., TAVARES, G.C., COELHO, G.L. Esporotricose e Leishmaniose Tegumentar em cães e gatos: semelhanças e diferenças. PUBVET 5, 1245-1250, 2011.

GOMES A.H.S, FERREIRA I.M.R, LIMA M.L.S.R, CUNHA E.A, GARCIA A.S., ARAÚJO

M.F.L. PCR identification of Leishmania in diagnosis and control of canine leishmaniasis. Vet Parasitol 2007;144:234-241.

HEUSSER JR., A., BELLATO, V., SOUZA, A., P., MOURA, A., B., SATOR, A., A., SANTOS, E., G., O., B., SILVA, V., L. Leishmaniose tegumentar canina no município de Balneário Camboriú, Estado de Santa Catarina, 2010.

HOFFMANN, A. R, NAVARRO, I. T., CAMARGO JR. V. E., CALDART, E.T., BREGANÓ, R. M, PEREIRA, P. M. *Leishmania amazonensis* em cão com quadro clínico de leishmaniose visceral no Estado do Paraná, Brasil – relato de caso. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 33, suplemento 2, p. 3265-3270, 2012.

JESUS, J.R., ARAÚJO, F.A.P., 2007. Leishmaniose tegumentar americana: uma visão da epidemiologia da doença na Região Sul. Clínica Veterinária 12, 82-84.

JOGAS JR., Denis Guedes. Trópicos, ciência e leishmanioses: uma análise sobre circulação de saberes e assimetrias. *História, Ciências, Saúde – Manguinhos*, Rio de Janeiro, v.24, n.4, out.-dez. 2017, p.1051-1070.

JULIÃO F. S., Souza B. M.P.S., FREITAS D. S., OLIVEIRA L. S., LARANJEIRA D. F., LIMA A. G. D., SOUZA V. M. M., MELO S. M. B., MOREIRA JR. E. D., PAULE B. J. A., FRANKE C. R. Investigação de áreas de risco como metodologia complementar ao controle da leishmaniose visceral canina. Pesq. Vet. Bras. 27(8):319-324, agosto, 2007.

LEAL, C. R. B., Métodos disponíveis e possíveis para o diagnóstico da leishmaniose visceral americana canina. Departamento de Medicina Veterinária. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade Federal do Mato Grosso do Sul. Campo Grande, MS, Brasil. Bepa 2009;6(69):14-18

LIMA, A. C. V. M. R. Estudo da Variabilidade Genética de *Leishmania (Viannia) braziliensis* Vianna, 1911 de Diferentes Regiões do Brasil. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte – MG. Dezembro - 2010

MACHADO, C. J. S., SILVA. E. G., VILANI, R. M. O uso de um instrumento de política de saúde pública controverso: a eutanásia de cães contaminados por leishmaniose no Brasil. Saúde Soc. São Paulo, v.25, n.1, p.247-258, 2016.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2006. 1. 120p.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Manual de Controle da Leishmaniose Tegumentar Americana. Organização: Gerência Técnica de Doenças Transmitidas por Vetores e Antropozoonoses. - Coordenação de Vigilância Epidemiológica - Centro Nacional de Epidemiologia – Fundação Nacional de Saúde - Brasília – 2000, 62 p. il.: 5ª Edição (revisada).

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2017. 189 p.: il. Edição eletrônica da 2ª, atualizado.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. *Nota técnica N° /2011 – UVR/CGDT/DEVEP/SVS/ MS, 2011*. Esclarecimentos sobre o diagnóstico sorológico da leishmaniose visceral canina utilizado na rede pública de saúde. 2011.

MISSAWA, N.A.; LIMA, G.B.M. Distribuição espacial de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) e *Lutzomyia cruzi* (Mangabeira, 1938) no Estado de Mato Grosso. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v.39, n.4, p.337-340, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/ s c i e l o . p h p ? s c r i p t = s c i _ a r t t e x t & p i d = S 0 0 3 7 - 86822006000400004>. Acesso em: 29 ago. 2008. doi: 10.1590/S0037-86822006000400004.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Control of the leishmaniasis. Thirteenth. Geneve: 2010.

QUEIROZ N. M. G. P; ASSIS J., OLIVEIRA T. M. F. S., MACHADO R. Z., NUNES C. M., STARKE-BUZETTI1W. A. Diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina pelas técnicas de imunoistoquímica e PCR em tecidos cutâneos em associação com a RIFI e ELISA-teste. Rev. Bras. Parasitol. Vet., Jaboticabal, v. 19, n. 1, p. 34-40, jan.-mar. 2010.

PORTO, M. L. Soroplevalência e fatores de risco para leishmaniose visceral canina em Patos, Paraíba, Brasil. 2010. 46 f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária), Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2010.

RODRIGUES, K. S., SILVA, A. M., ALMEIDA, A. P., COSTA E SILVA, M., VIANA. D.A., BARRETO, A. S. D., Leishmaniose canina na cidade de Caucaia, Ceará: Relato de Caso. v.12, n.8, a152, p.1-6, Ago., 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.31533/pubvet.v12n8a152.1-6> PUBVET

SILVA, F., S. Patologia e Patogênese da Leishmaniose Visceral Canina. Revista Tropica – Ciências Agrarias e Biológicas. V.1, n. 1, p. 20, 2007.

SILVA S. M, 2007**.** Avaliação Clínica e Laboratorial de Cães Naturalmente Infectados por *Leishmania (Leishmania) Chagasi* (Cunha & Chagas, 1937), Submetidos a um Protocolo Terapêutico em Clínica Veterinária de Belo Horizonte. Dissertação de Mestrado. Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, 2007.

SCHIMMING, B. C; PINTO E SILVA, J. R. C. Leishmaniose Visceral Canina – Revisão de literatura. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária, 2012. Disponível em: <http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/QKOIwlDa047cxSZ_2013-6-24-15-1-25.pdf>

SOCCOL V., T., BISETT JR., A., PASQUALI A., K., S., POZZOLO E., M., NAVARRO I., T., CHIYO L., BREGANÓ R., M., DIAS R., C., F., FRIEDRICH R., FREIRE R., L. Manual Técnico Leishmanioses Caninas. Leishmaniose Tegumentar Americana e Leishmaniose Visceral. Conselho Regional de Medicina Veterinária – Paraná, 2015.

SOLANO-GALLEGO, L., MIRÓ, G., KOUTINAS, A., CARDOSO, L., PENNISI, M. G., FERRER, L. BOURDEAU, P. et al. (2011). LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. Parasites & Vectors, 4:86.

VALE, E. C. S., FURTADO, T. Leishmaniose tegumentar no Brasil: revisão histórica da origem, expansão e etiologia. Anais Brasileiros de Dermatologia. An. Bras. Dermatol. vol.80 no.4 Rio de

Janeiro July/Aug. 2005.

ANEXO

Ficha epidemiológica utilizada para agrupar os animais examinados, suspeitos de Leishmaniose.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

PROJETO: ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DA LEISHMANIOSE EM CÃES NO MUNICÍPIO DE SOURE - PARÁ

N.	Nome do animal	Sexo	Raça	Idade	Motivo da realização da PCR	Localidade de procedência	Resultado da Sorologia	Resultado da PCR	Quais amostras positivas na PCR
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									
11									
12									
13									
14									