



UNICEPLAC

CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

INGRIDI NUNES SILVA

**ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO
DE LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA NO GAMA – DF**

Gama – DF
2019

INGRIDI NUNES SILVA

**ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO
DE LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA NO GAMA – DF**

Trabalho de Conclusão de Curso para avaliação no componente curricular TCC II, Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos, na área de Medicina Veterinária.

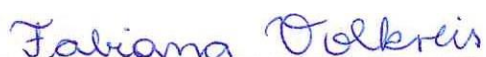
Orientador: Prof^ª MSc. Fabiana Sperb Volkweis
Co-orientador: MSc. Igor Melo Zimovski.

INGRIDI NUNES SILVA

**ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO
DE LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA NO GAMA – DF**

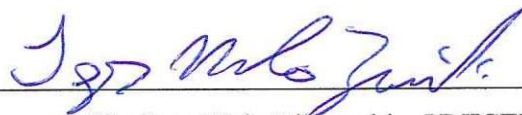
Trabalho de Conclusão de Curso para avaliação no componente curricular TCC II, Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos, na área de Medicina Veterinária, aprovado em 07/06/2019.

Banca Examinadora:



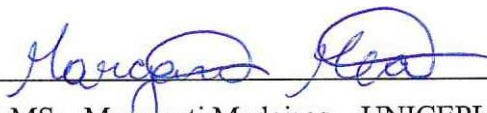
Prof^ª. MSc. Fabiana Sperb Volkweis – UNICEPLAC

Orientadora



MSc. Igor Melo Zimovski – UNICEPLAC

Co-orientador



Prof^ª. MSc. Marcareti Medeiros – UNICEPLAC

Examinadora

DEDICATÓRIA

A Deus, pela concretização desse sonho tão almejado; aos meus amados pais, irmãos e sobrinhas, pelo amor, incentivo e apoio; e ao meu avô Manoel (*in memoriam*), que sempre torceu para que esse momento chegasse.

AGRADECIMENTOS

Meu primeiro louvor a Deus, pelo dom da vida, por colocar inúmeras pessoas para me apoiarem nesta importante etapa de minha formação, e por me conceder sabedoria para lidar com tantas adversidades ao longo desses cinco anos.

Aos meus pais, Auri e Carlos, pelo esforço, dedicação, sacrifícios feitos para oportunizarem meus estudos, garantindo todo o sustento material enquanto permanecia em terra estrangeira e, principalmente, pelo amor incondicional, pela credibilidade, por serem exemplos de vida, fé e persistência.

Aos meus amados irmãos Gian, Lázaro e Hiago, que apesar da distância, estiveram sempre presentes em minha vida. Obrigada por tornarem os desafios do cotidiano mais divertidos. Estendo esse agradecimento às minhas queridas sobrinhas, Laila Sophia e Manuella.

Às famílias Nunes, Silva, Oliveira e demais agregados, minha gratidão. Talvez, vocês não tenham a noção do quanto cada palavra de incentivo recebida representou para mim, mas saibam que elas me fortaleceram na busca dos meus sonhos.

À Prof.^a M.Sc. Fabiana Sperb Volkweis, por ter aceito o convite para ser minha orientadora, pela paciência e motivação durante cada etapa de minha pesquisa e, principalmente, por acreditar no meu potencial quando eu mesma não acreditava.

A todos os professores da UNICEPLAC, aqui representados pela Prof.^a Dr.^a Vanessa Mustafa, Prof.^a Dr.^a Tatiana Marcola e Prof. Dr. Guilherme Tognoli. Muito obrigada por contribuírem com minha formação acadêmica.

Ao Dr. Igor Melo Zimovski pelos valiosos ensinamentos e pelas orientações no desenvolvimento deste trabalho. Sem os seus bons conselhos e sua disposição, não teria conseguido superar os diversos desafios.

Aos meus queridos colegas de turma, Ellen, Mateus, Thereza, Rafaela e Hercliton, pelo apoio, por toda convivência, gargalhadas, estudos, desesperos e pela sincera amizade. Sou muito grata por todos os momentos que passamos juntos!

Expresso ainda, meus sinceros agradecimentos aos diversos colaboradores, especialmente a toda equipe do HOVET-UNICEPLAC, representada pelas médicas veterinárias Dra. Rebeka Coelho e Dra. Carolina Rezende, as quais me incentivaram a nunca desistir; ao ex-professor Dr. Francisco Anilton Araújo, pelo apoio na elaboração do projeto de pesquisa; aos animais e aos seus tutores, por terem aberto as portas de suas moradias e terem permitido a realização deste estudo.

A grandeza de uma nação pode ser julgada pelo modo
que seus animais são tratados!

Mahatma Gandhi

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Lutzomia longipalpis	14
Figura 2 -	Ciclo biológico da Leishmaniose Visceral Canina	15
Figura 3 -	Ilustração da relação entre Th1 e Th2	17
Figura 4 -	Ficha de Coleta de Dados do animal e tubo identificados	20
Figura 5 -	KIT LVC DPP Bio-manguinhos®	20
Figura 6 -	Teste Rápido DPP® LVC.....	21

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Análise quantitativa do total de cães soro reagente por localidade investigada no Gama-DF.....	24
Tabela 2 - Descrição do fator de risco Faixa Etária para infecção de LVC.....	24
Tabela 3 - Descrição do fator de risco Raça para infecção de LVC.....	25
Tabela 4 - Quantidade de animais de raças definidas com sorologia positiva na região do Gama – DF.....	25
Tabela 5 - Descrição do fator de risco Porte para infecção de LVC.....	26
Tabela 6 - Descrição do fator de risco pelo curto e longo para infecção de LVC.....	27

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Conhecimento dos tutores a cerca da LVC	22
Gráfico 2	Análise quantitativa de cães soropositivos e soronegativos no Gama-DF.....	23
Gráfico 3	Descrição do fator de risco Exposição ao ar livre para infecção de LVC.....	26

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CODEPLAN	Companhia de Planejamento do Distrito Federal
CPV	Coordenação de Fiscalização de Produtos Veterinários
DF	Distrito Federal
DPP	<i>Dual Path Platform</i>
EDTA	Ácido etilenodiamino
ELISA	Ensaio imunoenzimático
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IFN-γ	Interferon gama
IL	Interleucina
LV	Leishmaniose Visceral
LVC	Leishmaniose Visceral Canina
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
OMS	Organização Mundial de Saúde
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	Reação em Cadeia de Polimerase
RIFI	Imunofluorescência Indireta
TGF-β	Fator de crescimento tumoral beta
TH1	Linfócito T auxiliar do tipo 1
TH2	Linfócito T auxiliar do tipo 2
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
TR	Teste rápido

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	19
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
4. CONCLUSÃO.....	27
5. REFERÊNCIAS.....	28

ANEXOS

APÊNDICES

**ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO
DE LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA NO GAMA-DF**

**EPIDEMIOLOGICAL STUDY
OF CANINE VISCERAL LEISHMANIASIS IN GAMA-FD**

**INGRIDI NUNES SILVA¹
FABIANA SPERB VOLKWEIS²**

1 Graduada em Medicina Veterinária da UNICEPLAC, Gama-DF.

2 Professora de Medicina Veterinária da UNICEPLAC, Gama-DF.

RESUMO

A Leishmaniose Visceral Canina (LVC) é uma doença grave, de caráter zoonótico, com elevada taxa de mortalidade, que está em expansão no Gama – DF e no Brasil. Causada por um protozoário do gênero *Leishmania*, conhecido popularmente como mosquito-palha, sua transmissão acontece sobretudo pela picada da fêmea, a qual tem os cães como principal reservatório doméstico, tornando estes animais uma fonte de transmissão para outros cães e para os humanos. A fim de contribuir com a pesquisa na área de Medicina Veterinária e Humana, este estudo, que é o primeiro inquérito sorológico de LVC no Gama – DF, foi realizado para avaliar a prevalência desta zoonose. Durante o período de abril de 2018 a abril de 2019, foram visitadas 263 residências, aleatoriamente, nos setores Central, Norte, Sul, Leste, Oeste, Ponte Alta Norte e Ponte Alta Sul, para a realização de entrevistas com os tutores e a coleta de sangue de um conjunto amostral de 400 cães. Após a coleta, as amostras de sangue canino passaram pelo teste rápido imunocromatográfico qualitativo DPP[®], o qual indicou um percentual de positividade bastante significativo (36,75%). Destaca-se também maior prevalência da LVC no setor Oeste (51,96%), Ponte Alta Norte (46,96%) e Norte (35,13%); e a falta de conhecimento sobre a LVC por parte da população, visto que 66,53% dos tutores entrevistados afirmaram não saber o que é a doença, nem tampouco suas formas de transmissão e prevenção. Diante do exposto, fica evidente a importância deste trabalho, vez que apresenta dados imprescindíveis para a política nacional de saúde pública de combate às leishmanioses, sugerindo-se priorizar o desenvolvimento de práticas contínuas de educação em saúde.

Palavras-chave: *Lutzomyia longipalpis*; Inquérito Sorológico; Vigilância Epidemiológica; Educação em Saúde.

ABSTRACT

Canine Visceral Leishmaniasis (CVL) is a serious zoonotic disease with a high mortality rate that is expanding in the Gama-Federal District and Brazil. Caused by a protozoan of the genus *Leishmania*, popularly known as a mosquito-palha, its transmission occurs mainly by the bite of the female, which has the dogs as its main domestic reservoir, making these animals a source of transmission to other dogs and human beings. In order to contribute to the research in the area of Veterinary and Human Medicine, this study, which is the first serological survey of CVL in the Gama - FD, was conducted to assess the prevalence of this zoonosis in the region mentioned. Thus, during the period from April 2018 to April 2019, 263 residences were randomly visited in the Central, North, South, East, West, North Ponte Alta and South Ponte Alta sectors, to conduct interviews with tutors and blood collection from a sample set composed of 400 dogs. After being correctly identified and centrifuged, the canine blood samples were submitted to the rapid qualitative immunochromatograph DPP® test, which indicated a very significant percentage of positivity (36.75%). Among other results of this study, we also highlight the higher prevalence of LVC in the Western sector (51.96%), Ponte Alta Norte (46.96%) and Norte (35.13%); and the lack of knowledge about LVC among the population, since 66.53% of the tutors interviewed said they did not know what the disease is, nor its forms of transmission and prevention. Given the above, it is evident the importance of this work, since it presents essential data for the national public health policy to combat leishmaniasis, suggesting prioritizing the development of continuous practices of health education.

Key-words: *Lutzomyia longipalpis*; Serological Investigation; Epidemiological Surveillance; Health Education.

1. INTRODUÇÃO

Popularmente conhecida como calazar (WHO, 2018), a Leishmaniose Visceral Canina (LVC) é uma doença grave, multissistêmica, negligenciada, de caráter zoonótico, com distribuição mundial, de notificação compulsória e com alta taxa de letalidade (VIEIRA NETO et al., 2011). Considerada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como uma das principais doenças emergentes de Saúde, sendo que, dos casos descritos na América, 90% são provenientes do Brasil, estima-se que ocorram anualmente 50.000 a 90.000 novos casos de LVC em todo o mundo (WHO, 2018).

Anteriormente caracterizada como doença eminentemente rural, a LVC vem se expandindo para áreas urbanas, tornando-se um grande problema de saúde pública no país (BRASIL, 2009). Dentre os fatores apontados como causadores dessa mudança no perfil da doença, destacam-se: as transformações ambientais, intensificadas pela expansão dos centros urbanos para as áreas rurais e silvestres, permitindo o contato com animais; o aumento de densidade populacional e urbanização desordenada; a imunossupressão e a desnutrição das populações em situação de vulnerabilidade social (GONTIJO e MELO, 2004; WERNECK, 2010). Associado a isso, está o aumento de virulência do parasito e o desenvolvimento de resistência do vetor a inseticidas, contribuindo para o processo de urbanização da doença, vez que alargam as populações de vetores e reservatórios do parasito (WERNECK, 2008).

No Brasil, é causada por um protozoário tripanosomatídeo, do gênero *Leishmania*, cujo agente etiológico é a *Leishmania chagasi*, que é transmitido para os hospedeiros suscetíveis por insetos hematófagos da espécie *Lutzomyia longipalpis* e *Lutzomyia cruzi*. Ainda é provável que uma terceira espécie participe da transmissão, o *Lutzomyia migonei* (BRASIL, 2017). Porém, o principal é o *L. longipalpis* (Figura 1), conhecido popularmente como mosquito palha, tatuquira, birigui, asa dura, orelha de veado, entre outros. Encontrado em diversas áreas (ALCÂNTARA et al., 2012; BOSSLER, 2012), sendo capaz de infectar o homem e várias espécies de animais domésticos, silvestres e de produção (PAIXÃO, 2017).



Figura 1: *Lutzomyia longipalpis*
Fonte: saude.df

No que se refere ao processo de transmissão (Figura 2), o principal mecanismo ocorre através das fêmeas do *L. longipalpis* quando necessitam alimentar-se de sangue para maturação dos ovos. Durante o repasto sanguíneo nos hospedeiros infectados, ingerem a forma amastigota da *Leishmania*. Após 72 horas, as formas amastigotas transformam-se em promastigotas infectantes no trato digestivo anterior do vetor. Durante o novo repasto sanguíneo do vetor em um hospedeiro, as promastigotas são inoculadas e assumem a forma amastigota ao serem fagocitadas pelos macrófagos no hospedeiro vertebrado. As células parasitadas se rompem, liberando as formas que serão fagocitadas por novos macrófagos. Então, os parasitos podem-se disseminar via circulação linfática ou sanguínea, infectando medula óssea, linfonodos, fígado e baço, rins e trato gastrointestinal (CANCINO, 2009; SILVA, 2014; YAMAMICHI, 2014).

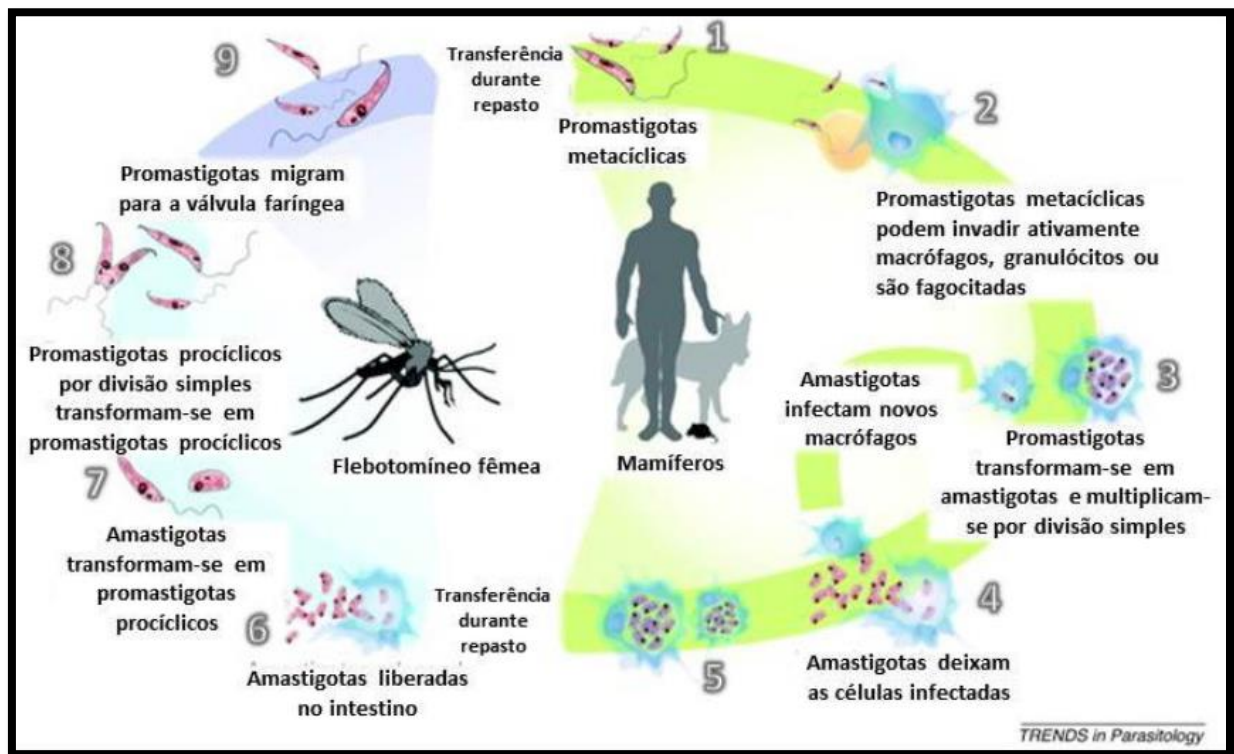


Figura 2: Ciclo biológico da Leishmaniose Visceral Canina (LVC).

Fonte: Adaptado de HARHAY *et al.*, 2011, p. 404

O cão desempenha um importante papel na epidemiologia da doença. Sendo considerado o principal reservatório doméstico, servindo como fonte para a infecção dos flebotomíneos e consequente transmissão para outros cães e para os humanos (FONTES e SILVA, 2011).

Outras espécies domésticas, como os felinos (SOUSA, 2017), servem como fontes de reservatório para flebotomíneos. Inclusive, no Brasil e em outras partes do mundo, animais de produção, tais como: os suínos (MORAES-SILVA *et al.*, 2006), equinos (MAGALHÃES *et al.*, 2016), bovinos (PAIXÃO, 2017), bubalinos e caprinos (KHANAL *et al.*, 2010), já foram detectados com carga parasitária de *Leishmania spp.*

Os principais reservatórios silvestres são as raposas (*Dusicyon vetulus* e *Cerdocyon thous*) e os marsupiais (*Didelphis albiventris*) (BRASIL, 2017). Outros autores descrevem a existência de casos de leishmaniose, no Brasil, em Lobos Guará (*Spheotos venaticus*) (PAIXÃO, 2017), gambás (*Didelphis sp.*) em Bauru-SP (SANTIAGO, 2007), cachorro-domato (*Cerdocyon thous*) na Amazônia, e em raposa-do-campo (*Lycalopex vetulus*) (CARDOSO, 2012; ALVES, 2016).

Os pássaros e as galinhas são considerados reservatórios secundários. Quando infectados, não são capazes de manter o ciclo enzoótico, servindo apenas como fonte de alimentação para o vetor, porém não atuam como reservatórios do parasita (JULIÃO, 2011).

Há relatos descritos da ocorrência de transmissão por outros meios que não o vetorial, como: transfusão sanguínea (FREITAS *et al.*, 2006), transmissão venérea (ROMERO e BOELAERT, 2010), transmissão vertical (NAUCKE e LORENTZ, 2012), e através de mordeduras e ingestão de vísceras contaminadas (BRASIL, 2009).

A LVC é uma doença de curso lento e crônico, caracterizada por febre de longa duração, anemia, perda de peso, prostração, hepatoesplenomegalia, atrofia muscular e insuficiência renal crônica. As alterações dermatológicas podem ser caracterizadas por dermatites esfoliativas, ulcerativas, nodulares e pustulares, hiperqueratose nasal e digital, onicogribose, despigmentação oral e nasal, dentre outras manifestações. Devido à baixa especificidade dos sinais clínicos, torna-se de difícil diagnóstico. Quando não tratada, pode evoluir para o óbito em mais de 90% dos casos (FONTES e SILVA, 2011; BRASIL, 2016).

Como as leishmanias são parasitas intracelulares, a resposta imune mediada por célula é de fundamental importância na resistência do hospedeiro. Nesse caso, a infecção poderá ser contida e o animal evoluir para cura espontânea com a eliminação do parasito, inibindo os sinais ou progressão da doença (BANETH *et al.*, 2008).

A resistência à infecção (Figura 3) está associada a um perfil de secreção de citocinas do tipo Th1 como IL-12, interferon (IFN)- γ , IL-2 e fator de necrose tumoral (TNF)- α que aumentam a eficiência das células fagocíticas e dos linfócitos citotóxicos. Por outro lado, a susceptibilidade à infecção está associada a um perfil do tipo Th2, com predominância de IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 e TGF- β (DE ALMEIDA LEAL *et al.*, 2014). Assim sendo, ambos os

perfis de respostas, Th1 e Th2, estão presentes, mas a primeira pode ser predominante em cães resistentes (SARIDOMICHELAKIS, 2009).

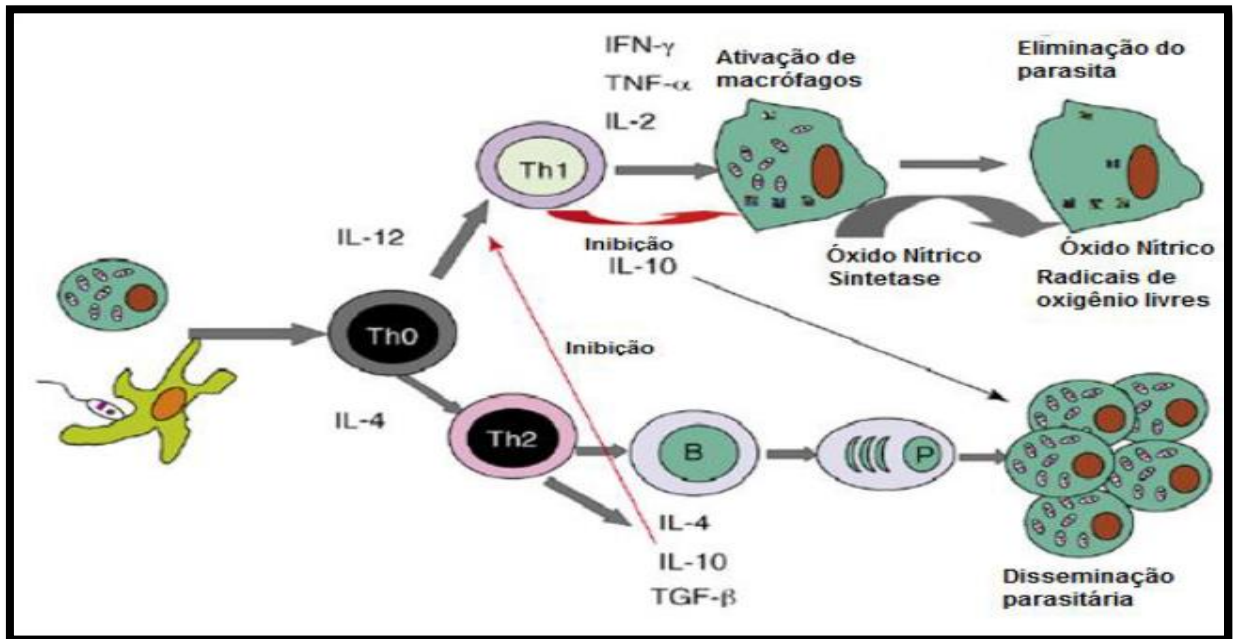


Figura 3: Ilustração da relação entre Th1 e Th2.

Fonte: Adaptado de BANETH *et al.*, 2008.

Vale salientar que, além do tipo de resposta Th1 ou Th2 estabelecido em reação aos antígenos de *Leishmania*, outros fatores, como variação genética e condição nutricional, podem influenciar a capacidade do hospedeiro em controlar a infecção (ROMÃO *et al.*, 2008).

O correto diagnóstico é fundamental para o controle e a prevenção da LVC. Ele pode ser estabelecido de forma clínica, sorológica, parasitológica, molecular, entre outras. No entanto, vem se apresentando como um problema para os serviços de saúde pública devido a três fatores: a variedade de sinais clínicos semelhantes em outras doenças infecciosas; alterações histopatológicas inespecíficas e falta de um teste diagnóstico 100% específico e sensível (BRASIL, 2006).

O diagnóstico clínico é o primeiro a ser realizado, porém de difícil determinação devido à variedade dos sintomas ou mesmo aos casos assintomáticos existentes. Por esta razão, requer a confirmação mediante exames laboratoriais como o parasitológico, o molecular e o sorológico. O primeiro é um método invasivo que consiste na realização de biópsia ou punção aspirativa do baço, fígado, medula óssea ou linfonodos, classificado por diversos autores como essencial e de certeza, pois sua especificidade é de 100% embora sua sensibilidade seja muito variável (GONTIJO e MELO, 2004).

O segundo é o exame molecular denominado Reação em Cadeia Polimerase (PCR), descrito como o método de maior sensibilidade (94%) e especificidade de 100% para o diagnóstico da LV, quando comparado a outros métodos parasitológicos, pois detecta e identifica o DNA dos parasitos da *Leishmania* (BRASIL, 2006).

O terceiro fundamenta-se na detecção de anticorpos anti-*Leishmania*, através de técnicas sorodiagnósticas, tais como os Testes Rápidos (TR), Imunofluorescência Indireta (RIFI) e Ensaio Imunoenzimático Indireto (ELISA) (BRASIL, 2006).

Atualmente, o Ministério da Saúde preconiza, para a realização dos exames em cães no Brasil, o teste rápido imunocromatográfico (TR-DPP®) como triagem, e o ensaio imunoenzimático (ELISA) como confirmatório (BRASIL, 2011).

O teste rápido imunocromatográfico qualitativo DPP® (Bio-manguinhos/FIOCRUZ) é utilizado na detecção de anticorpos em amostra de sangue, soro ou plasma. Esse teste emprega a combinação de proteína A conjugada a partículas de ouro coloidal, e de outros antígenos recombinantes específicos de *Leishmania*, ligados a uma membrana de nitrocelulose, que processará o resultado positivo por meio de reação de cor. As vantagens são rapidez, simplicidade e fácil uso, podendo ser executado em campo (BIO-MANGUINHOS, 2011).

Os graus de sensibilidade e especificidade de testes imunocromatográficos, que utilizam antígeno recombinante rK39 em cães, mostram sensibilidade que varia de 72 a 97,06 % e especificidade de 61 a 100 % (REITHINGER et al., 2002; da COSTA *et al.*, 2003; METTLER *et al.*, 2005; LEMOS et al., 2008; LIMA *et al.*, 2010).

Durante muito tempo, não foi permitida a realização do tratamento para LVC com medicamentos de uso humano ou sem registro pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA (Portaria Interministerial - MS e MAPA - nº 1.426, de 11 de julho de 2008). Sendo indicada a realização de eutanásia em animais positivos como forma de controle de reservatório canino, conforme com a Resolução n.º 1.000, de 11 de maio de 2012, do Conselho Federal de Medicina Veterinária (BRASIL, 2017).

Em recente Nota Técnica nº 11/2016/CPV/DFIP/SDA/GM/MAPA, publicada pelo MAPA, foi concedido licenciamento para registro do Milteforan®, droga indicada para o tratamento da LVC, lançada em janeiro de 2017. Destaca-se que o tratamento em cães soropositivos não se configura como uma medida de saúde pública para controle da doença. Trata-se, portanto, de uma escolha única e exclusiva do tutor do animal, ou seja, uma decisão de caráter individual, uma vez que o tratamento é de alto custo e o Estado não o fornece (BRASIL, 2016).

As ações voltadas à vigilância e ao controle da LVC, de responsabilidade do sistema público de saúde brasileiro, consistem em ações de saneamento ambiental e de educação em saúde, por meio da limpeza, eliminação e destino adequado de matérias orgânicas, como forma de controle vetorial; na utilização de coleiras impregnadas com deltametrina a 4%, como medida de proteção individual para os cães, visto que ainda não há estudos que mensurem o uso da vacina para LVC; e em outras ações que reduzam o número de ambientes propícios para proliferação do inseto vetor (BRASIL, 2017).

Face ao exposto, acredita-se na relevância deste estudo para as áreas da medicina veterinária e humana, visto que objetiva apresentar os resultados obtidos através da investigação da prevalência epidemiológica de Leishmaniose Visceral Canina na região administrativa do Gama-DF.

Conhecida como a capital do Entorno, é polo econômico e geográfico para cidades goianas vizinhas (Novo Gama, Valparaíso, Cidade Ocidental, Luziânia e Santo Antônio do Descoberto). A população estimada da cidade em 2018 foi de 142.420 moradores, de acordo com o IBGE, Censo Demográfico, 2010 e o CODEPLAN (Projeções Populacionais para as Regiões Administrativas do Distrito Federal 2010-2020, 2018). No que se refere à renda, a maioria da população é de classe média.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Durante o período de abril/2018 a abril/2019, foi realizado um estudo prospectivo transversal e longitudinal para detecção da Leishmaniose Visceral na população canina domiciliada na região do Gama-DF. Para tanto, após o esclarecimento dos objetivos do estudo e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice A), foram coletadas informações através de um questionário aplicado aos tutores, visando obter informações de interesse do estudo, referentes à idade, sexo, raça e outras características do animal e da residência, bem como o grau de conhecimento sobre LVC (Apêndice B).

Foram realizadas visitas em 263 residências aleatoriamente dos setores Central, Leste, Oeste, Sul e Ponte Alta Norte e Sul, em um conjunto amostral composto por 400 cães domésticos, sendo 196 machos e 204 fêmeas.

Para a coleta de sangue os cães foram contidos de forma segura, amordaçados com focinheira, sendo que houve uma prévia higienização do local da coleta com solução de clorexidine degermante e álcool 70%. O sangue foi obtido por venopunção jugular e/ou

cefálica dos animais, com seringa descartável de 3 ml, e as amostras foram imediatamente acondicionadas em tubo sem EDTA, previamente identificados (Figura 4), guardados em caixas isotérmicas e transportados até o laboratório de análises clínica da UNICEPLAC.

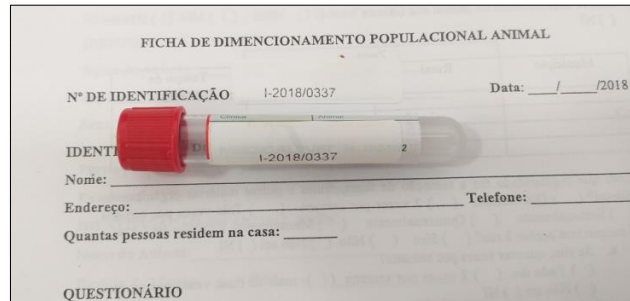


Figura 4: Ficha de Coleta de Dados do animal e tubo previamente identificados.

As amostras de sangue foram centrifugadas por 10 minutos e transferidas para Eppendorf, os quais foram devidamente identificados e armazenados a -20°C até a realização do teste rápido *Dual Path Platform* (TR-DPP®_ Leishmaniose Visceral Canina). O DPP foi realizado com o soro das amostras de sangue coletadas, e a prova sorológica foi executada a partir do KIT produzido pelo Bio-manguinhos® (Figura 5). Seguindo as instruções de uso do fabricante, adicionou-se 5 μL de sangue total ao poço 1 “amostra + tampão”, e em seguida, 2 gotas do tampão no mesmo poço. Após 5 minutos, as duas linhas azuis, controle (C) e teste (T), desapareceram. Por conseguinte, colocou-se 4 gotas do tampão no poço 2 intitulado “tampão”, aguardando de 10 a 15 minutos para leitura do resultado.



Figura 5: KIT LVC DPP Bio-manguinhos®

O teste foi considerado positivo quando apareceram duas linhas vermelhas dentro do período de até 20 minutos, sendo uma referente ao controle do teste e outra da amostra. O resultado foi negativo ao se observar o aparecimento de apenas uma linha vermelha, referente ao controle do teste (Figura 6). E ele foi considerado inválido quando nenhuma linha foi visualizada. Nesse caso, repetiu-se o teste, utilizando um novo kit.



Figura 6: Resultado do DPP® LVC (À esquerda, cão não reagente; à direita, cão soro reagente).

Os dados obtidos foram inseridos em uma planilha do Microsoft Excel-Office®, com o nome e número de registro do animal, resultado do DPP, sexo, raça, idade, pelagem, porte, procedência, endereço e demais informações.

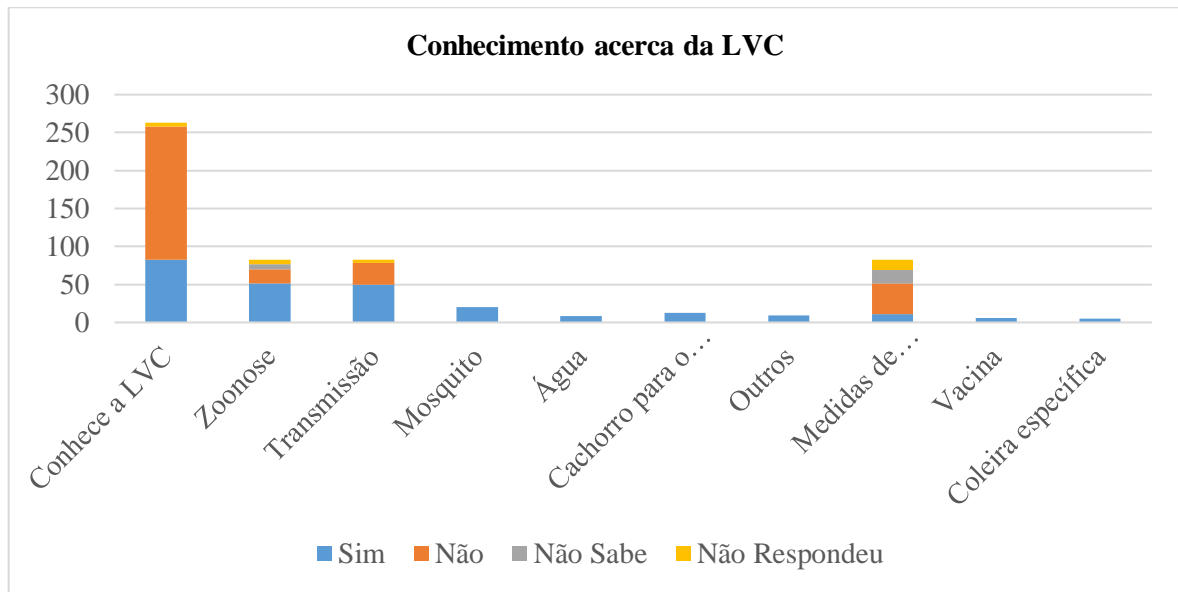
Os soros dos cães positivos foram encaminhados para o Centro de Zoonose de Brasília, para contraprova e notificação de controle epidemiológico.

A pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais das Faculdades Integradas da União Educacional do Planalto Central – CEUA/FACIPLAC, atualmente denominada Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos – UNICEPLAC, e identificada através do Protocolo nº 016/2018 (Anexo A), esta pesquisa constitui-se do primeiro inquérito sorológico da Leishmaniose Visceral na população canina da região administrativa do Gama/DF.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A primeira evidência desta pesquisa diz respeito ao conhecimento dos tutores acerca da LVC, suas formas de transmissão e prevenção. Conforme o Gráfico 1, a maioria dos 263 entrevistados (66,53%) não tinha conhecimento sobre a doença. Ao se considerar os 83 participantes que afirmaram ter informações sobre a LVC, 61,44% sabiam do seu caráter zoonótico; 60,24% conheciam as formas de transmissão desta zoonose; 40% afirmaram que o mosquito é o principal vetor. No que diz respeito às medidas de prevenção, 48,19% afirmaram não as executar, 38,55% não souberam ou não quiseram responder e somente 13,25% apontaram realizar alguma forma de prevenção, dentre as quais o uso de coleira específica e vacinação.

Gráfico 1: Conhecimento dos tutores a cerca da LVC.

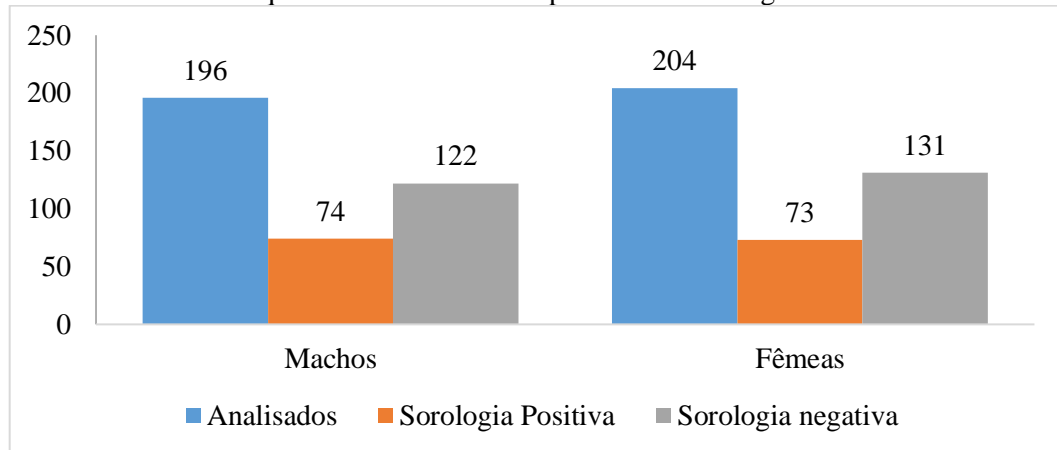


Notou-se a falta de conhecimento da população entrevistada do Gama-DF sobre a LVC, indicando a imprescindibilidade de realização de práticas de ações educativas e preventivas para esclarecimentos sobre a doença, bem como estruturar ações constantes de vigilância, para monitoramento e intervenções, a fim de conter o aumento dos casos entre os caninos e, conseqüentemente, entre humanos.

Esses resultados estão de acordo com os descritos por Borges *et al.* (2008), Brito *et al.* (2015) e Menezes *et al.* (2016), os quais verificaram haver desinformação acerca da LVC na população de Belo Horizonte – MG, Cruz das Almas, no Recôncavo da Bahia e Formiga – MG respectivamente, assim como apontaram a necessidade de ações educativas e de prevenção, para minimizar o risco de ocorrência dessa zoonose.

Das 400 amostras analisadas através do teste sorológico DPP, 36,75% (147/400) apresentaram anticorpos anti-*Leishmania spp.*, com presença de cães soropositivos. Destes, 36,27 % (74/196) eram machos e 35,78% (73/204) fêmeas (Gráfico 2).

Gráfico 2: Análise quantitativa de cães soropositivos e soronegativos no Gama – DF.



Entre os dois grupos, houve uma pequena diferença no percentual de infectados, evidenciando que, possivelmente, não há predisposição sexual frente à infecção, dado que corrobora autores como Feitosa *et al.*, (2000) e Sonoda (2013). Contudo, sabe-se de estudos realizados em outros estados, como no Tocantins (SANTOS, 2008), Pernambuco (DANTAS-TORRES *et al.*, 2006), Paraíba (SILVA *et al.*, 2016), e em outro país, Portugal, especificamente na cidade de Lisboa (PINHÃO, 2009), que relatam maior prevalência em cães do sexo masculino. Por outro lado, Amóra *et al.*, (2006) e Silva *et al.*, (2017) encontraram maior percentual de soropositivos entre as fêmeas.

A alta soroprevalência observada no Gráfico 2 foi compatível com um estudo realizado por Silva *et al.* (2017), em cães de assentamentos rurais do semiárido paraibano, cujo percentual foi 38,6%, utilizando a mesma técnica sorológica descrita nesta pesquisa.

Embora haja diferença nas metodologias empregadas e tamanho das amostragens utilizadas, outros autores têm relatado prevalências menores em estudos anteriores, mostrando a ampla distribuição da doença em diversas regiões do país: 2,3% em Carmo da Mata, MG (MELO, 2016); 3,35% no Município de Florianópolis-SC (INDÁ, 2016); 6,7% em municípios do Rio Grande do Sul (HIRSCHMANN *et al.*, 2015); 6,86% em Florianópolis-SC (CORRÊA *et al.*, 2010); 7,8% em Poxoréo- MT (AZEVEDO *et al.*, 2008); 8,4% em áreas endêmicas de Cuiabá-MT (ALMEIDA *et al.*, 2009); 9,3% em Goiânia-GO (AZEVEDO *et al.*, 2011); 11,33 % em cães da zona rural de Patos-PB (SILVA *et al.*, 2017); 13,1 % no município de Goiânia-PE (ANDRADE, 2014); 16,8% em microrregião serrana dos quilombos, Leste Alagoano, Alagoas (CORDEIRO *et al.*, 2016); 19% das amostras foram reagentes em regiões do DF e de algumas cidades do estado de Goiás (CHAGAS, 2017); 19,16% no município de Petrolina-PE (MAIA *et al.*, 2014); e de 21,6 % em Niterói-RJ, (ABRANTES *et al.*, 2018).

No que se refere à densidade amostral canina na região do Gama (Tabela 1), houve maior prevalência da LVC nos seguintes setores: Oeste, com 51,96%; Ponte Alta Norte, com 46,96%; e Norte, com 35,13.

Tabela 1: Análise quantitativa do total de cães soro reagentes por localidade investigada no Gama-DF.

Localização	Coletas	Positivo	%
Oeste	102	53	51,96
P A Norte	66	31	46,96
Norte	37	13	35,13
Leste	80	23	28,75
Sul	44	10	22,72
P A Sul	40	9	22,50
Central	31	8	25,80
TOTAL	400	147	36,75

Fonte: Silva, 2019.

Vale destacar, que as diferenças no quantitativo de animais avaliados acima ocorreram por conta de alguns tutores não permitirem a realização da coleta, temendo a possível eutanásia do seu animal, caso esse fosse reagente. Além disso, há muita desinformação acerca da doença.

Outro aspecto importante diz respeito à predisposição etária dos cães (Tabela 2). Percebe-se que os animais filhotes de até 1 ano apresentaram 45,12 % de prevalência da LVC, percentual maior do que os jovens de 2 a 3 anos (34,55 %), os adultos de 4 a 6 anos (36,36 %) e os animais considerados idosos (31,14%). Esse resultado se assemelham aos resultados obtidos por Dantas-Tores et al. (2006) que evidenciam maior prevalência em animais com até um ano de idade.

Tabela 2: Descrição do fator de risco Faixa Etária para infecção de LVC.

Idade	Coletas	Positivos	%
Filhote (1 ano)	82	37	45,12
Jovem (2-3 anos)	136	47	34,55
Adulto (4-6 anos)	121	44	36,36
Idoso (A partir de 7 anos)	61	19	31,14
TOTAL	400	147	36,75

Fonte: Silva, 2019.

Em outros estudos, tais como os realizados por Almeida *et al.*, (2010), na cidade de Cuiabá-MT, e Vigilato (2004), no município de Birigui-SP, constam maior ocorrência de LVC entre animais de um e três anos de idade. Já Azevedo *et al.*, (2008) obtiveram maior

percentual de positividade em animais com mais de sete anos. Por outro lado, França-Silva *et al.*, (2003) e Gontijo e Melo (2004) ressaltam que, independente da faixa etária, da característica sexual ou racial os cães têm a mesma possibilidade de contrair a leishmaniose. No caso desta pesquisa, acredita-se que a alta prevalência de LVC nos filhotes, e também nos jovens, pode estar relacionada à imaturidade do sistema imunológico desses animais (SEIXAS *et al.*, 2012).

No tocante à distribuição racial (Tabela 3), a amostragem apontou que 64,75% não apresentavam raças definidas. Porém, dos soropositivos, 43,51% compreendiam os de raça definida.

Tabela 3: Descrição do fator de risco Raça para infecção de LVC.

Cães	Coletas	%	Positivo	%
Com Raça Definida	131	32,75	57	43,51
Sem Raça Definida	259	64,75	90	34,74
Não Responderam	10	2,5	0	0
TOTAL	400		147	36,75

Fonte: Silva, 2019.

Apesar de todas as raças estarem susceptíveis à infecção por *Leishmaniose spp.*, tem-se associado maior resistência à infecção os cães sem raça definida e os cães de caça Ibizan (SOLANO-GALLEGO *et al.*, 2000; CORTES *et al.*, 2012). Todavia, dentre as 25 raças pesquisadas, destacam-se (Tabela 4) aquelas cujo percentual de soropositivos foram mais relevantes: Labrador (54,54%), Dobermann (46,15%), Pinscher (45%), Yorkshire (42,85%) e Shith-szu (38,46%).

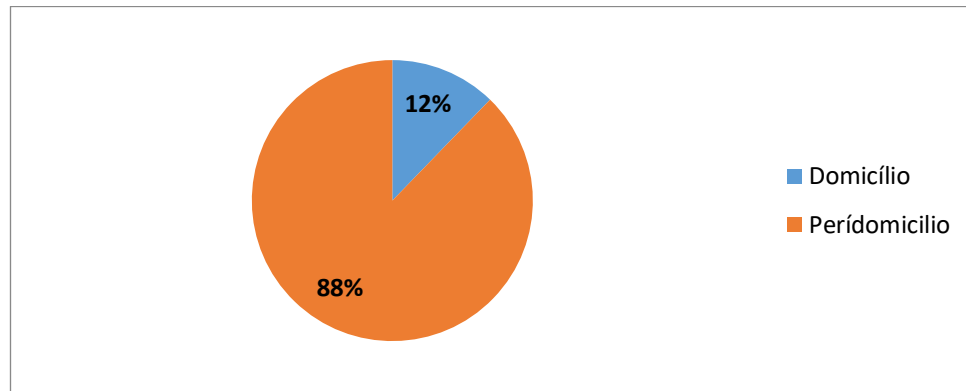
Tabela 4: Quantidade de animais de raças definidas com sorologia positiva na região do Gama – DF.

Raças Definidas	Coletas	Positivo	%
Labrador	11	06	54,54
Dobermann	13	06	46,15
Pinscher	20	09	45,00
Yorkshire	07	03	42,85
Shith-szu	26	10	38,46
TOTAL	77	34	36,75

Fonte: Silva, 2019.

Quanto aos hábitos de vida dos cães pesquisados, verificou-se que 88% (129/147) dos soropositivos permaneciam maior parte do tempo ao ar livre (Gráfico 3).

Gráfico 3: Descrição do fator de risco Exposição ao ar livre para infecção de LVC.



Além disso, averiguou-se que 80,27% (119/147) dos cães tinham acesso controlado à rua, apenas duas vezes ao dia, confirmando estudos realizados no município de Cuiabá (MT), por Almeida *et al.*, (2009), em que os animais com hábitos de dormirem no peridomicílio, com acesso à rua e cães da zona rural estão mais predispostos à LVC.

Sobre o porte, Coura-Vital (2011) diz que os cães que possuem a superfície corporal maior estão mais expostos ao vetor. Essa afirmação foi verificada durante a pesquisa no Gama-DF (Tabela 5), visto que há maior prevalência da doença em cães de grande porte (38,88%).

Tabela 5: Descrição do fator de risco Porte para infecção de LVC.

Porte	Coletas	Positivo	%
Pequeno	165	60	36,36
Médio	145	52	35,86
Grande	90	35	38,88
TOTAL	400	147	36,75

. Fonte: Silva, 2019.

Ao se considerar que 85,71% (30/35) dos cães de grande porte residem em canis, quintais e chácaras, com a finalidade de guarda, acredita-se que a soroprevalência nesse grupo pode estar associada à sua exposição ao vetor, que habita locais úmidos, escuros e com muitas plantas. Tais resultados ratificam os estudos de Feitosa *et al.*, (2000) e Aguiar *et al.*, (2007), pois eles asseveram que os animais de grande porte estão mais suscetíveis à picada do vetor porque passam mais tempo ao ar livre, com finalidade de guarda ou caça.

Nesta mesma linha, estão Miranda *et al.*, (2008) e Pinhão (2009), os quais relatam que os animais de pequeno porte estão mais protegidos por conviverem no interior das residências, diminuindo a possibilidade de infecção.

Outro aspecto importante diz respeito à pelagem dos cães soropositivos, a qual foi determinada curta em 74,14% (109/147) dos casos, enquanto 25,86% (38/147) tinham pelos médios e longos (Tabela 6). O risco é mais elevado em animais de pelos curtos porque, provavelmente, o vetor tem mais facilidade em atingir a pele do cão para efetuar o repasto sanguíneo, enquanto o pelo comprido protege melhor a pele do animal (BARBOZA *et al.*, 2006; PINHÃO, 2009; BORDONI, 2014).

Tabela 6: Descrição do fator de risco pelo curto e longo para infecção de LVC.

Pelagem	Coletas	Soropositivos	%
Curto	297	109	74,14
Médio	87	33	22,44
Longo	16	5	3,40
TOTAL	400	147	36,75

Fonte: Silva, 2019.

Acerca da convivência com outras espécies de animais como fator de risco de infecção da LVC, verificou-se que 77,55% (114/147) dos cães soropositivos convivem com galináceos, suínos, bovinos, equinos, felinos e outros pets não convencionais. Esse dado está de acordo com autores que relatam que a presença de outras espécies favorece a disseminação dos flebotomíneos, aumentando o risco de transmissão da LVC aos cães (ALEXANDER *et al.*, 2002; MOREIRA JR *et al.*, 2003; OLIVEIRA, 2003; JULIÃO, 2004; BARBOZA *et al.*, 2006 e AZEVEDO *et al.*, 2008).

4. CONCLUSÃO

O desenvolvimento do presente estudo possibilitou verificar, através do método sorológico, especificamente do teste rápido imunocromatográfico DPP (Bio-manguinhos[®]), que 36,75% de uma amostra de 400 cães domiciliados no Gama-DF São soro reagentes a *Leishmania*. Isso indica que há nesta região uma alta soroprevalência de Leishmaniose Visceral Canina, sendo esse um grave problema de saúde pública que merece toda a atenção dos órgãos governamentais, das instituições de ensino públicas e privadas, e também da população, devido ao seu caráter zoonótico.

Dentre os principais resultados desta pesquisa, destacam-se também: a) Falta de conhecimento sobre a LVC por parte da população; b) Maior prevalência da LVC no setor Oeste (51,96%), Ponte Alta Norte (46,96%) e Norte (35,13%); e c) Os distintos fatores de risco para infecção da LVC, tais como faixa etária, sexo, raça, porte e pelagem, revelaram que,

independentemente de sua predisposição sexual, os cães filhotes (48,05%), os cães de raça definida (43,51%), os de grande porte (38,88%), os de pelagem curta (74,14%), ou aqueles que conviviam no peridomicílio (87,75%) ou tinham acesso a outras espécies de animais disseminadores dos flebotomíneos (77,55%), apresentaram maior soroprevalência.

Diante do exposto, conclui-se que esta pesquisa é de extrema relevância para as áreas de medicina veterinária e humana, assim como para a sociedade em geral, porque apresenta dados imprescindíveis para a política nacional de saúde pública de combate às leishmanioses, além de se constituir como o primeiro inquérito sorológico de LVC realizado na região do Gama-DF. No entanto, por não ter esgotado as possibilidades de estudo sobre o tema, permite a realização de novas investigações, inclusive com a utilização de outros testes diagnósticos para o desenvolvimento e fortalecimento da vigilância da LVC no Gama-DF.

5. REFERÊNCIAS

ABRANTES, T. R., WERNECK, G. L., ALMEIDA, A. S. D. *et al.* Fatores ambientais associados à ocorrência de leishmaniose visceral canina em uma área de recente introdução da doença no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 34, n. 1 p. 12, 2018.

AGUIAR, P. H. P., SANTOS, S. O., PINHEIRO, A. A. *et al.* Quadro clínico de cães infectados naturalmente por *Leishmania chagasi* em uma área endêmica do estado da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.8, n.4, p. 283-294, out/dez, 2007.

ALCÂNTARA, S. H., SOUSA, M, F, A., MAGALHÃES, A, N., *et al.* Características epidemiológicas e distribuição espacial da Leishmaniose Visceral Americana canina e humana na Cidade de Caxias, no Estado do Maranhão de 2005 a 2010. **PUBVET**, Londrina, V. 6, N. 35, Ed. 222, Art. 1477, 2012.

ALEXANDER, B., de CARVALHO, R. L., MCCALLUM, H. *et al.* Role of the domestic chicken (*Gallus gallus*) in the epidemiology of urban visceral leishmaniasis in Brazil. **Emerging infectious diseases**, v. 8, n. 12, p. 1480, 2002.

ALMEIDA A. B. P. F., MENDONÇA A. J., SOUSA V. R. F. Prevalência e epidemiologia da leishmaniose visceral em cães e humanos, na cidade de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. **Ciência Rural**, v.40, n.7, p.1610-1615, 2010.

ALMEIDA, A. B. P. F., FARIA, R. P., PIMENTEL, M. F. A. *et al.* Inquérito soropidemiológico 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.

ALVES, M. L. **Ocorrência da leishmaniose visceral em cães e gatos em abrigos de animais de Ilha Solteira, SP.** 2016. 111p. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia Animal) – Faculdade de Engenharia – UNESP, Câmpus de Ilha Solteira, 2016.

AMÓRA S. S. A., SANTOS M. J. P., ALVES N. D. *et al.* Fatores relacionados com a positividade de cães para leishmaniose visceral em área endêmica do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Ciência Rural**, v.36, n.6, p.1854-1859, 2006.

ANDRADE, T. A. S. **Soroprevalência, fatores e aspctos clínicos associados á leishmaniose visceral canina em Goiás, Estado de Pernambuco, Brasil.** 2014. 71p. Dissertação (Mestrado em Biomedicina e Biotecnologia em saúde) – Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2014.

AZEVEDO, E. M. R., DUARTE, S. C., COSTA, H. X. D. *et al.* Estudo da leishmaniose visceral canina no Município de Goiânia, Goiás, Brasil. **Revista de Patologia Tropical.** v. 40, n. 2, p. 159-168, 2011.

AZEVEDO, M. Á. A. D., DIAS, A. K. K., PAULA, H. B. D. *et al.* Avaliação da leishmaniose visceral canina em Poxoréo, Estado do Mato Grosso, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, n. 3 ,p. 123-127, 2008.

BANETH, G., KOUTINAS, AF, SOLANO-GALLEGO, L. *et al.* Leishmaniose canina - novos conceitos e insights sobre uma zoonose em expansão: primeira parte. **Tendências em parasitologia** , v. 24, n. 7, p. 324-330, 2008.

BARBOZA, D. C., GOMES NETO, C., LEAL, D. C. *et al.* Estudo de coorte em áreas de risco para leishmaniose visceral canina, em municípios da Região Metropolitana de Salvador, Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.7, n. 2, p. 152-163, 2006.

BIO-MANGUINHOS. Instituto de Tecnologia em Imunodiagnósticos. TR DPP® Leishmaniose Visceral Canina. **Teste Rápido qualitativo para detecção de anticorpos de cão para Leishmania.** BIO-MANGUINHOS, Rio de Janeiro, 2011.

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

BORGES, B. K. A., SILVA, J. A. D., HADDAD, J. P. A. *et al.* Avaliação do nível de conhecimento e de atitudes preventivas da população sobre a leishmaniose visceral em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 24, n. 4, p. 777-784, 2008.

BOSSLER, S. R. **Leishmaniose Visceral Canina.** 2012. 31p. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto alegre, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. **Guia de Vigilância em Saúde.** – 1. ed. atual. 773 p. – Brasília: Ministério da Saúde, 2016.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. **Guia de Vigilância em Saúde** – 1. ed. atual. v 3. 286 p. – Brasília: Ministério da Saúde, 2017.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. – 1. Ed. 120 p. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2006.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Guia de vigilância epidemiológica**. – 7. ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2009.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças transmissíveis. **Esclarecimento sobre substituição do protocolo diagnóstico da leishmaniose visceral canina (LVC)**; Nota técnica conjunta nº 01/2011 – CGDT CGLAB/DEVIT/SVS/MS, 2011.

BRITO, J. A., DOS SANTOS, R. A., RIBEIRO, R. R. Avaliação do conhecimento sobre a leishmaniose visceral antes e depois de intervenção educacional em proprietários de cães da cidade de Cruz das Almas, Recôncavo da Bahia. **Rev. Ciênc. Ext.** v.11, n.2, p.104-114, 2015.

CANCINO, V. V. P. **Avaliação imunodiagnóstica de antígenos excretados-secretados de L.(L.) amazonensis, L.(V.) braziliensis e L.(L.) chagasi na Leishmaniose visceral humana e canina**. 2009. 47 p. Dissertação (Mestre em Ciências Biológicas) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

CARDOSO, S. P., **Leishmaniose Visceral Canina (LVC): revisão de literatura e estudo comparativo entre as técnicas de citopatologia, histopatologia e imuno-histoquímica no diagnóstico da LVC em cães naturalmente infectados do Distrito Federal**. 2012. 71p. Monografia de conclusão do Curso de Medicina Veterinária. Universidade de Brasília, Brasília, 2012.

CHAGAS, R. L. de A. **Leishmaniose Visceral Canina: Perfil epidemiológico do Distrito Federal, 2013 a 2017**. 2017. 54p. Monografia (Graduação - Medicina Veterinária) Universidade de Brasília- Brasília, 2017.

CODEPLAN-COMPANHIA, DE PLANEJAMENTO DO DISTRITO. FEDERAL. **Pesquisa Distrital por Amostra de Domicílios - PDAD 2015**. Disponível em: <http://www.codeplan.df.gov.br/pdad-2015/>. Acesso em: 10 mai 2019.

CODEPLAN-COMPANHIA, DE PLANEJAMENTO DO DISTRITO. FEDERAL. **Pesquisa Distrital por Amostra de Domicílios - PDAD 2017**. Disponível em: <http://www.codeplan.df.gov.br/pdad-2017-em-processo-de-reponderacao/>. Acesso em: 10 mai. 2019.

CODEPLAN-COMPANHIA, DE PLANEJAMENTO DO DISTRITO. FEDERAL. **Projeções da População do Brasil e Unidades da Federação por sexo e idade: 2010-2020**. 2018. Disponível em: <http://www.codeplan.df.gov.br/pdad-2015-em-processo-de-reponderacao/> . Acesso em 03 maio 2019.

CODEPLAN-COMPANHIA, DE PLANEJAMENTO DO DISTRITO FEDERAL. **Projeções da População do Brasil e Unidades da Federação por sexo e idade: 2010-2020. 2018.** Disponível em: <http://www.codeplan.df.gov.br/pdad-2015-em-processo-de-reponderacao/>. Acesso em 03 mai 2019.

CORDEIRO, L. L. L. R., DA SILVA, E. M., SANTANA-LIMA, V. F. *et al.* Leishmaniose Visceral Canina Na Microrregião Serrana Dos Quilombos, Leste Alagoano, Alagoas, Brasil. **Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**, v. 12, n. 22, p. 169-176, 2016.

CORRÊA, G. L. B., INDÁ, F. M. C., OTA, E. V. S. *et al.* **Inquérito canino censitário de leishmaniose visceral no município de Florianópolis, em 2010.** Disponível em: http://www.pmf.sc.gov.br/arquivos/arquivos/PDF/16_11_2011_10.24.22.2871ae70a3883368f5fb35793a3b4b00.PDF. Acesso em: 05 de abril de 2019.

CORTES, S., VAZ, Y., NEVES, R., MAIA. *et al.* Risk factors for canine leishmaniasis in an endemic Mediterranean region. **Veterinary Parasitology**, v. 189, n. 2-4, p. 189-196, 2012.

COURA-VITAL, W. **Estudo epidemiológico prospectivo em cães assintomáticos infectados por *Leishmania (Leishmania) infantum* e identificação de biomarcadores de infecção.** 2011. 190p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

DA COSTA, R. T., FRANÇA, J. C., MAYRINK, W. *et al.* Standardization of a rapid immunochromatographic test with the recombinant antigens K39 and K26 for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 97, n. 6, p. 678– 82, 2003.

DANTAS-TORRES, F.; BRANDÃO-FILHO, S.P. Expansão geográfica da leishmaniose visceral no Estado de Pernambuco. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.39, n.4, p.352-356, 2006.

DE ALMEIDA LEAL, G. G., ROATT, B. M., DE OLIVEIRA AGUIAR-SOARES, R. D. *et al.* (2014) Immunological profile of resistance and susceptibility in naturally infected dogs by *Leishmania infantum*. **Veterinary Parasitol**, v. 205, n. 3-4, p. 472-482, 2014.

DE LIMA, V. M. F; FATTORI, K. R., DE FÁTIMA MICHELIN, A. *et al.* Comparison between ELISA using total antigen and immunochromatography with antigen rK39 in the diagnosis of canine visceral leishmaniasis. **Veterinary parasitology**, v. 173, n. 3-4, p. 330-333, 2010.

DE MELO, M. O. G. **Avaliação da leishmaniose canina e co-infecção com outro protozoário e rickettsias no município de Carmo da Mata, MG.** 2016. 156 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Federal de São João Del-Rei, Divinópolis-MG, 2016. Disponível em: <https://www.bio.fiocruz.br/index.php/produtos/reativos/testes-rapidos/dppr-leishmaniose-canina> > Acesso em 10 de abril de 2018.

FEITOSA, M. M., IKEDA, F. A., LUVIZOTTO, M. C. R. *et al.* Aspectos clínicos de cães com leishmaniose visceral no município de Araçatuba–São Paulo (Brasil). **Clínica Veterinária**, v. 5, n. 28, p. 36-44, 2000.

FONTES, S. D.; SILVA, A. S. A. Leishmaniose Visceral Canina. In: Simpósio de Produção Acadêmica, v 3. n.1, 2011, Viçosa. **Anais**. 2011, p. 285-290.

FRANÇA-SILVA J.C., DA COSTA, R. T., SIQUEIRA, A. M. *et al.* Epidemiology of canine visceral leishmaniasis in the endemic area of Montes Claros municipality, Minas Gerais State, Brazil. **Veterinary Parasitology**. V.111, n.2-3, p. 161-173, 2003.

FREITAS, E., MELO, M, N., COSTA-VAL, A. P. *et al.* Transmission of *Leishmania infantum* via blood transfusion in dogs: potential for infection and importance of clinical factors. **Veterinary parasitology**, v. 137, n. 1-2, p. 159-167, 2006.

GONTIJO, C. M. F.; MELO M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, p. 338-349, 2004.

HARHAY, M. O. OLLIARO, P. L., COSTA, D. L. *et al.* Urban parasitology: visceral leishmaniasis in Brazil. **Trends in parasitology**, v. 27, n. 9, p. 403-409, 2011.

HIRSCHMANN, L. C. BROD, C. S., RADIN, J. *et al.* Leishmaniose visceral canina: comparação de métodos sorológicos em cães de área indene do Rio Grande do Sul no Brasil. **Revista de Patologia Tropical/Journal of Tropical Pathology**, v. 44, n. 1, p. 33-44, 2015.

IBGE. Projeções da população. Tabelas - 2018. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/sociais/populacao/9109-projecao-dapopulacao.html?=&t=resultados>. Acesso em: 10 mai 2019.

JULIÃO, F. S. **Estudo epidemiológico de focos de leishmaniose visceral canina na Região Metropolitana de Salvador, Bahia, Brasil**. 2004. 63 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Tropical), Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2004.

JULIÃO. F. S. **Uso de método de biologia molecular quantitativo (PCR *real-time*) na avaliação de reservatórios para leishmaniose visceral**. 2011. 84p. Tese (Doutorado em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa) – Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, 2011.

KHANAL, B., PICADO, A., BHATTARAI, N, R. *et al.* Spatial analysis of *Leishmania donovani* exposure in humans and domestic animals in a recent kala azar focus in Nepal. **Parasitology**, v. 137, n. 11, p. 1597-1603, 2010.

LEMOS, E. M., LAURENTI, M. D., MOREIRA, M. A. B. *et al.* Canine visceral leishmaniasis: performance of a rapid diagnostic test (Kalazar Detect) in dogs with and without signs of the disease. **Acta tropica**, v. 107, n. 2, p. 205–7, 2008.

LIMA, V. M. F. DE., FATTORI, K. R., MICHELIN, A. DE F. *et al.* Comparison between ELISA using total antigen and immunochromatography with antigen rK39 in the diagnosis of canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, v. 173, n. 3–4, p. 330–3, 2010.

MAGALHÃES, N. A., DA SILVA RIBEIRO, F. H., DE SÁ JÚNIOR, J. A. *et al.* Equídeos infectados por *Leishmania (Leishmania) Infantum* na área endêmica de Teresina, Piauí,

Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 23, n. 3-4, p. 163-167, 2016. Disponível em: <http://revistas.bvs-vet.org.br/rbcv/article/view/36292>. Acesso em: 24 mar. 2018.

MAIA, C. S., de SOUZA PIMENTEL, D., de ANDRADE SANTANA, M. *et al.* C. Análise espacial da leishmaniose visceral americana no município de Petrolina, Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**, v. 10, n. 18, p. 167-176, 2014.

MENEZES, J. A. *et al.* Fatores de risco peridomiciliares e conhecimento sobre leishmaniose visceral da população de Formiga, Minas Gerais. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v.19, n. 2, p. 362-74, Abril-Junho, 2016.

METTLER, M.; GRIMM, F.; CAPELLI, G., *et al.* Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assays, an immunofluorescent-antibody test, and two rapid tests (immunochromatographic-dipstick and gel tests) for serological diagnosis of symptomatic and asymptomatic *Leishmania* infections in dogs. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 11, p. 5515–9, 2005.

MIRANDA, S., ROURA, X., PICADO, A. *et al.* Characterization of sex, age, and breed for a population of canine leishmaniosis diseased dogs. **Research in veterinary science**, v. 85, n. 1, p. 35-38, 2008.

MORAES-SILVA, E.; ANTUNES, F. R. RODRIGUES, M, S. *et al.* Domestic swine in a visceral leishmaniasis endemic area produce antibodies against multiple *Leishmania infantum* antigens but apparently resist to *L. Infantum* infection. **Acta Tropica**, v. 98, p. 176–182, 2006.

MOREIRA JR, E. D., DE SOUZA, V. M., SREENIVASAN, M. *et al.* Peridomestic risk factors for canine leishmaniasis in urban dwellings: new findings from a prospective study in Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 69, n. 4, p. 393-397, 2003.

NAUCKE, T.J.; LORENTZ, S. First report of venereal and vertical transmission of canine leishmaniosis from naturally infected dogs in Germany. **Parasites & Vectors**, v.5, n. 1, p.67, 2012. Disponível em: <<https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/1756-3305-5-67?site=parasitesandvectors.biomedcentral.com>>. Acesso em: 25 mar. 2018.

O DISTRITO, CODEPLAN-Companhia de Planejamento. Federal. **Pesquisa distrital por amostra de domicílios do Distrito Federal**, 2011. Disponível em: <http://www.codeplan.df.gov.br/pdad-2011-em-processo-de-reponderacao/>.>Acesso em 03 mai 2019.

OLIVEIRA, L. C. P. **Soroprevalência da leishmaniose visceral canina no município de Dias D'Ávila, Bahia**. 2003. 79p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Tropical), Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2003.

PAIXÃO, M. S. **Análise espacial e detecção de tripanosomatídeos em animais de produção de região endêmica para leishmaniose visceral**. 2017. 151 p. Tese (Doutora em Doenças Tropicais) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2017.

- PINHÃO, C. P. R. **Leishmaniose canina: estudo de 158 casos da região de Lisboa**. 2009. 53 p. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária), Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2009.
- REITHINGER, R.; QUINNELL, R. J.; ALEXANDER, B. *et al.* Rapid detection of *Leishmania infantum* infection in dogs: comparative study using an immunochromatographic dipstick test, enzyme-linked immunosorbent assay, and PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 7, p. 2352–6, 2002.
- ROMÃO, P. R. T., DIAS, R. O., CRUZ, K. K. *et al.* Leishmaniose: resposta imune e mecanismos antioxidantes de escape. **Revista de Pesquisa e Extensão em Saúde**, v. 3, n. 1, 2008.
- ROMERO, G. A.S; BOELAERT, M. Controle da leishmaniose visceral na América Latina - uma revisão sistemática. **PLoS negligenciadas doenças tropicais** , v. 4, n. 1, p. e584, 2010. Disponível em: <<http://journals.plos.org/plosntds/article/file?id=10.1371/journal.pntd.0000584&type=printable>>. Acesso em: 24 mar. 2018.
- SANTIAGO, M. E. B. **Investigação de *Leishmania* sp. em *Didelphis* sp. (Linnaeus, 1756) na cidade de Bauru -São Paulo**. 2007. 62p. Dissertação (Mestre em Ciências da Saúde) Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2007.
- SANTOS, H. D. **Fatores associados à soropositividade para leishmaniose visceral canina no município de Piraquê, Estado do Tocantins, Brasil**. 2008. 90 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2008.
- SARIDOMICHELAKIS, M. N. Advances in the pathogenesis of canine leishmaniosis: epidemiologic and diagnostic implications. . **Veterinary dermatology**, v. 20, n. 5-6, p. 471-489, 2009.
- SEIXAS, M. M. MAGALHÃES JÚNIOR, J. T., FRANKE, C. R. *et al.* Positividade para leishmaniose visceral canina: existem fatores caninos que contribuem?. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v. 36, n. 2, p.358-367, 2012.
- SILVA R. B. S., MENDES R. S., SANTANA V. L. *et al.* Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral canina na zona rural do semiárido paraibano e análise de técnicas de diagnóstico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. V. 36, n. 7, p. 625-629, 2016.
- SILVA, A. R. S. **Leishmaniose visceral canina: estudo imaginológico em cães naturalmente infectados**. 2014. 128 p. Tese (Doutorado em Biotecnologia Animal) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu-SP, 2014.
- SILVA, J D., MELO, D. H., COSTA, J. A. *et al.* Leishmaniose visceral em cães de assentamentos rurais1. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 11, p. 1292-1298, 2017.
- SOLANO-GALLEGO, L., LLULL, J., RAMOS, G. *et al.* The Ibizian hound presents a predominantly cellular immune response against natural *Leishmania* infection. **Parasitologia Veterinária**, v. 90, n. 1-2, p. 37-45, 2000.

SONODA, M. C., NAZARETIAN ROSSI, C., DALASTRA LAURENTI. *et al.* Estudo retrospectivo de casos caninos de leishmaniose atendidos na cidade de São Paulo, Brasil (1997-2007). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 2, p. 741-758, 2013.

SOUSA, S. A. P. **Diagnóstico de leishmaniose em *Felis catus domesticus* de área urbana endêmica da região norte do Brasil**. 2017. 83 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO, 2017.

VIEIRA NETO, F. A., SOUSA, A, K, S., MARQUES, M, V., *et al.* Avaliação De Parâmetros Bioquímicos Em Cães Infectados Por *Leishmania chagasi*. **Revista de Ciências da Saúde**, v. 13, n. 2, p. 131-140. 2011.

VIGILATO, M. A. N. **Distribuição espacial da leishmaniose visceral canina e humana no Município de Birigui – SP**. 2004. 85p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2004.

WERNECK, G L. Geographic spread and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. **Caderno de saúde pública**, v. 24, n. 12, p. 2937-2940, 2008.

WERNECK, G. L. Expansão geográfica da leishmaniose visceral no Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, v.26, n.4, p. 644-645, 2010. Disponível em: <https://www.scielosp.org/article/ssm/content/raw/?resource_ssm_path=/media/assets/csp/v26n4/01.pdf>. Acesso em: 24 mar. 2018.

WHO, Fact sheets, **Leishmaniasis**. World Health Organization. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>>. Acesso em: 25 mar. 2018.

YAMAMICHI, E. **Estudo químico e avaliação da atividade antiprotozoária in vitro do óleo volátil de *Lavandula angustifolia* Miller (Lamiaceae)**. 2014. 112 p. Dissertação (Mestre em Fármacos e Medicamentos) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

ANEXO A – CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DO CEUA



Faciplac

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DAS FACIPLAC

Certificamos que o projeto intitulado “Estudo de prevalência de Leishmaniose Visceral Canina em região administrativa do Gama-DF (Primeira etapa)”, Protocolo nº 016/2018, sob a responsabilidade de Fabiana Sperb Volkweis – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de ensino ou pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado com recomendações pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA das FACIPLAC), em reunião do dia 10/maio/2018.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa científica
Vigência do Projeto	Maio de 2018 a Dezembro de 2019
Espécie/linhagem	Caninos
Nº de animais	200-300
Peso/Idade	1 - 45 kg/ Adultos
Sexo	Não se aplica
Origem	Residências do Gama, DF

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



Faciplac

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
PROJETO DE MONITORAMENTO DA LVC NO GAMA- DF**

Eu, _____ RG
_____, CPF _____, residente no
endereço: _____,

proprietário do cão _____ da raça
_____,

aceito que meu animal participe desse estudo, cujo objetivo é avaliar a prevalência da Leishmaniose Canina na região do Gama-DF, através do teste rápido DPP. Fui informado que o meu cão terá seu sangue coletado para o teste de diagnóstico da leishmaniose visceral canina (LVC) no estudo acima referido. Fui orientado em relação aos benefícios desse estudo, que contribuirá para determinar a prevalência e o controle da leishmaniose na região do Gama. Autorizo a Diretoria de Vigilância Ambiental em Saúde (DIVAL) a conservar, sob sua guarda, o material biológico, para ser usado com objetivo de pesquisa médica, em saúde ou educacional, podendo ser utilizado em pesquisas posteriores. Estou ciente que poderei recusar ou retirar meu consentimento, em qualquer momento da investigação, sem qualquer penalização ou pressão e que não serei ressarcido financeiramente para participar deste estudo.

Este “termo de consentimento” me foi totalmente explicado e eu entendi seu conteúdo e minha participação no mencionado estudo. Estou consciente dos meus direitos, das minhas responsabilidades, dos riscos e dos benefícios que a minha participação implica. Concordo em participar e dou o meu consentimento sem que para isso eu tenha sido forçado ou obrigado.

Gama-DF _____ de _____ de 2018.

Assinatura do responsável pelo cão

APÊNDICE B – QUESTIONÁRIO PARA ENTREVISTA COM OS TUTORES DOS CÃES

PROJETO DE MONITORAMENTO DA LVC NO GAMA-DF

FICHA DE DIMENSIONAMENTO POPULACIONAL ANIMAL

Nº DE IDENTIFICAÇÃO: _____

Data: __/__/2018

IDENTIFICAÇÃO DO ENTREVISTADO

Nome: _____

Endereço: _____

Telefone: _____ Quantas pessoas residem na casa: _____

QUESTIONÁRIO

1. Tem algum animal em casa? () Sim () Não
 - a) Se sim, qual (ais) espécies e quantidade: Cão ____ Gato ____
Outras espécies _____
2. Seu (s) animal (ais) tem acesso ao Médico Veterinário? () Sim () Não
 - a) Quantas vezes ao ano? () 1 a 2 vezes ao ano () 3 a 5 vezes ao ano
() mais de 5 vezes ao ano () Não sei
 - b) Qual foi a ultima vez que levou para o veterinário? () um mês atrás
() A menos de 5 meses () um ano atrás
3. Conhece sobre a Leishmaniose Visceral Canina? () Sim () Não
 - a) Se sim, LVC é uma zoonose? () Sim () Não
 - b) Se não, pule para a pergunta 8.
4. Conhece a forma de transmissão? () Sim () Não
 - a) Se sim, qual a forma? () Mosquito () Água () Cachorro/homem () Outra forma
5. Adota alguma medida de prevenção contra a doença? () Sim () Não
 - a) Se sim, quais? () Vacina () Coleira repelente específica
6. Já fez algum exame para diagnostico de LVC? () Sim () Não
 - a) Qual o resultado de teste: () Positivo () Negativo
7. Conhece alguma pessoa na região com a doença? () Sim () Não
8. Local que reside: () Casa () Chácara () Apartamento
9. Houve deslocamento do animal nos últimos 3 anos? () Sim () Não
10. Com que regularidade faz a remoção a remoção de fezes, frutas e outras matérias orgânicas do quintal? () Diariamente () 2 x por semana () 3 x por semana () Semanalmente () Quinzenalmente () Mensalmente () Não sabe
11. O animal tem acesso á rua? () Sim () Não
 - a) Se sim, quantas vezes ao dia? () 1x ao dia () 2 x ao dia () 3 x ao dia

12. Há serviços de coleta de lixo em sua rua? () Sim () Não
 a) Se sim, quantas vezes por semana? _____
13. Possui plantas frutíferas na residência? () Sim () Não
14. Presença de ectoparasitas nos animais? () Sim () Não
 a) Se sim, que tipo? () Pulga () Carrapato () Piolho () Não sabe identificar
 b) Considera a infecção: () Leve () Moderada () Grave
15. Faz vermifugação do animal? () Sim () Não
 a) Se sim, com qual regularidade? () A cada 6 meses () Anualmente
16. Qual a procedência do animal? () Compra () Doação () Resgate
17. Local onde o animal fica maior parte do tempo? () Quintal () Dentro de casa
18. O animal toma vacina? () Sim () Não
 a) Se sim, quais são feitas anualmente? () Raiva () Óctupla/Déctupla ()
 Leishmaniose () Giárdia () Nenhuma
 b) Quantas doses da vacina Leishmaniose? () Três primeiras () Anualmente

IDENTIFICAÇÃO DO ANIMAL

Nome do animal: _____ Idade _____

Sexo: () Fêmea () Macho Raça: _____

Pelo: () Curto () Médio () Longo

Porte: () Pequeno () Médio () Grande

Exames: () DPP () Elisa () PCR

Nome do animal: _____ Idade _____

Sexo: () Fêmea () Macho Raça: _____

Pelo: () Curto () Médio () Longo

Porte: () Pequeno () Médio () Grande

Exames: () DPP () Elisa () PCR

Nome do animal: _____ Idade _____

Sexo: () Fêmea () Macho Raça: _____

Pelo: () Curto () Médio () Longo

Porte: () Pequeno () Médio () Grande

Exames: () DPP () Elisa () PCR