

AFONSO HEUSSER JÚNIOR

**LEISHMANIOSE TEGUMENTAR CANINA NO MUNICÍPIO DE
BALNEÁRIO CAMBORIÚ, SANTA CATARINA.**

LAGES – SC

2008

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

AFONSO HEUSSER JÚNIOR

**LEISHMANIOSE TEGUMENTAR CANINA NO MUNICÍPIO DE
BALNEÁRIO CAMBORIÚ, SANTA CATARINA.**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientador: Prof. PhD. Valdomiro Bellato

LAGES – SC

2008

AFONSO HEUSSER JÚNIOR

**LEISHMANIOSE TEGUMENTAR CANINA NO MUNICÍPIO DE
BALNEÁRIO CAMBORIÚ, SANTA CATARINA.**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre no Curso de Mestrado em Ciências Veterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, pela banca examinadora:

Banca Examinadora:

Orientador:

.....
Prof. PhD. Valdomiro Bellato
UDESC – CAV

Membro:

.....
Prof. Dr. Mário Steindel
Universidade Federal de Santa Catarina – (UFSC)

Membro:

.....
Prof^a. PhD. Amélia Aparecida Sartor
UDESC - CAV

Lages, SC 26 de março de 2008.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Valdomiro Bellato pela orientação, paciência, dedicação e apoio constante na realização deste trabalho.

Ao Professor Dr. Antonio Pereira de Souza, pelos comentários sempre pertinentes que muito contribuíram na elaboração deste trabalho.

Aos Professores Anderson Barbosa de Moura e Amélia Aparecida Sartor, pelas importantes sugestões na elaboração da Dissertação

A Dr^a. Elizabeth Gloria Oliveira Barbosa Santos (ENSP-FIOCRUZ) pela atenção, cordialidade e importante apoio ao trabalho com o fornecimento do antígeno Immunoleish[®] e apoio laboratorial.

Ao Dr. Valmir Laurentino da Silva, do Laboratório de Pesquisa e Serviço em Saúde Pública/DCB (ENSP-FIOCRUZ) pelo apoio técnico nas análises laboratoriais.

.A comunidade acadêmica: do Curso de Mestrado em Ciências Veterinárias, do Centro de Ciências Agroveterinárias e da Fundação Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), que contribuíram para a realização do Curso de Mestrado.

A Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) que por meio da Direção, Pesquisadores e Técnicos disponibilizaram material, equipamentos e permitiram o acompanhamento dos exames laboratoriais.

Aos proprietários de cães que gentilmente nos permitiram realizar a coleta de seus animais sempre nos acolhendo de forma calorosa

Ao funcionário da Clínica Veterinária Top Dog, Thiago Duarte Gouveia pela colaboração na coleta de material dos cães.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Em 2004 no estado de Santa Catarina foram registrados quatro casos de leishmaniose tegumentar americana (LTA) em humanos. O aumento no número de casos de leishmaniose tegumentar no ano de 2005 foi em decorrência do surto ocorrido nos municípios de Itapema e Balneário Camboriú com 15 e 30 casos, respectivamente. A realização do presente trabalho teve como objetivos determinar a presença de infecção por *Leishmania* spp. em caninos domésticos residentes em foco endêmico no município de Balneário Camboriú, bem como, relacionar cães positivos sorologicamente e/ou por intradermorreação com animais que apresentam lesões sugestivas e com os positivos no exame de pesquisa de parasitos. Foram cadastrados 275 animais, os quais foram examinados segundo seus aspectos clínicos, desenvolvimento de hipersensibilidade tardia ao antígeno Immunoleish[®] e respostas sorológicas à reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e ao ensaio imunoenzimático (ELISA). Dos 275 animais, sete apresentaram lesões suspeitas, porém não foram encontradas leishmanias pelo método parasitológico direto (escarificação de lesão). O resultado da sorologia foi de 5,8% de positividade para a técnica de RIFI e 6,2% para a de ELISA enquanto que para a prova intradérmica foi de 1,8%. Somando os cães positivos pelos exames sorológicos e/ou pela prova intradérmica obteve-se um total de 24 positivos, prevalência de 8,7% para LTA no município de Balneário Camboriú, SC. Os resultados são sugestivos de que no município de Balneário Camboriú a instalação da LTA canina se encontra numa situação recente, indicando a necessidade de estudos adicionais para esclarecer o papel do cão no ciclo de transmissão do parasito.

Palavras-chave: diagnóstico, *Leishmania*, cães, Santa Catarina.

ABSTRACT

In 2004, the state of Santa Catarina recorded four cases of American Cutaneous Leishmaniasis (ACL) in human beings. The increase in the number of tegumentary leishmaniasis, in 2005, was due to the outbreak that took place in the cities of Itapema and Balneário Camboriú, with 15 and 30 cases, respectively. The aim of this study was to determine the presence of infection by *Leishmania* spp. in domestic dogs located in an endemic focus in the city of Balneário Camboriú; and to relate that were dogs positive serologically and/or through an intradermal reaction with animals that presented suggestive lesions and/or positive results in the parasitological test. A total of 275 animals were examined according to their clinic aspects, development of late hypersensitiveness to the Immunoleish[®] antigens and serological responses to the indirect immunofluorescence assay (IFA), and to the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). From all animals, seven presented suspect lesions, but leishmanias were not found through the direct parasitological method (lesion scraping). The serological result displayed 5.8% positiveness by IFA and 6.2% by ELISA, whereas for the intradermal test, 1.8% were positive. When results for dogs positive to ACL through the serologic exams and/or intradermal test, are combined, a total of 24 animals was obtained, indicating a prevalence of 8.7% for ACL in the city of Balneário Camboriú, SC. The results suggest the establishment of (ACL) canine in Balneário Camboriú to be recent, indicating the need of additional studies to clarify the role of the dog in the parasite transmission cycle.

Key-words: diagnosis, *Leishmania*, dogs, Santa Catarina

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Formas amastigota (a) e promastigota (b) de <i>Leishmania</i> spp.....	14
Figura 2 - Lesão cicatricial sugestiva de LTA em pavilhão auricular de canino de Balneário Camboriú, SC.....	36
Figura 3 - Lesão sugestiva de LTA no focinho de canino de Balneário Camboriú, SC.....	36
Figura 4 - Lesão sugestiva de LTA na face interna do membro posterior de canino de Balneário Camboriú, SC.....	36
Figura 5 - Lesão sugestiva de LTA no pavilhão auricular de canino de Balneário Camboriú, SC.....	35
Figura 6 - Lesão cicatricial em bolsa escrotal, sugestiva de LTA, em canino com reação intradérmica positiva (seta) de Balneário Camboriú, SC.....	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Caracterização da amostra segundo idade, atividade, presença de infecção humana (LTA) na residência, sinais clínicos, exame sorológico, reação intradérmica e total de cães com infecção pela LTA, em Balneário Camboriú, SC.....	34
Tabela 2 - Distribuição dos cães positivos segundo sexo, idade, atividade, proximidade da floresta e presença de caso humano de LTA na residência, em Balneário Camboriú, SC.....	40
Tabela 3 - Número da sorologia pelos testes de RIFI e ELISA na detecção de anticorpos anti- <i>Leishmania</i> spp. em cães e as variáveis do ambiente, atividade e presença de infecção humana de LTA na residência, em Balneário Camboriú, SC.....	41

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	10
1 REVISÃO DE LITERATURA	12
1.1. O PARASITO	12
1.2. CICLO BIOLÓGICO	14
1.3. O INSETO VETOR	15
1.4. LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA	16
1.5. LEISHMANIOSE TEGUMENTAR EM SANTA CATARINA	19
1.6. LEISHMANIOSE TEGUMENTAR CANINA	21
1.7. DIAGNÓSTICO	23
2 MATERIAL E MÉTODOS	27
2.1. DESCRIÇÃO DA ÁREA E PERÍODO DE COLETA DE DADOS	27
2.2. POPULAÇÃO DE ESTUDO	27
2.3. TESTE INTRADÉRMICO	28
2.4. DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO	29
2.5. DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO	29
2.5.1 Coleta de Amostras de Sangue	29
2.5.2 Reação de Imunofluorescência Indireta	29
2.5.3 Ensaio Imunoenzimático	30
2.6. CRITÉRIOS PARA CONSIDERAR O ANIMAL POSITIVO	31
2.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA	31
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
CONCLUSÕES	42
ANEXOS	43
Anexo A - Ficha clínico-epidemiológica	43
REFERÊNCIAS	44

INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma doença infecciosa de caráter crônico e manifestações clínicas diversas, causada por protozoários patogênicos do gênero *Leishmania*, classificado na ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae e que acomete o homem e várias espécies de animais silvestres e domésticos. É transmitida por insetos dípteros hematófagos pertencentes à subfamília Phlebotominae.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) inclui as leishmanioses humanas dentre as seis enfermidades tropicais mais importantes e apresentam duas formas clínicas principais: a leishmaniose visceral (LV) e a leishmaniose tegumentar (LT). A LV é uma forma grave e pode ser fatal se não tratada, consiste em uma infecção generalizada que acomete o sistema reticuloendotelial envolvendo baço, fígado, medula óssea e linfonodo. A LT apresenta um espectro de manifestações clínicas sendo as principais a leishmaniose cutânea, a leishmaniose cutâneo-mucosa e a leishmaniose cutâneo-difusa. No novo Mundo, a LT é causada por uma variedade de espécies sendo seus principais agentes etiológico a *Leishmania braziliensis*, a *Leishmania amazonensis* e a *Leishmania guyanensis*, enquanto que no Velho Mundo, as espécies responsáveis por esta manifestação da doença são, entre outras, a *Leishmania tropica*, a *Leishmania major* e *Leishmania aethiopica*.

Na LT, várias investigações sobre possíveis reservatórios domésticos têm sido feitas, tanto no Brasil quanto no exterior. A LT constitui um problema de saúde

no Brasil e a presença de cães infectados em áreas endêmicas tem sido investigada considerando seu papel como reservatório na cadeia de transmissão de *Leishmania* spp. nos ambientes domiciliar e peridomiciliar.

O crescente número de casos autóctones da leishmaniose tegumentar americana (LTA) em humanos e o aumento na notificação dos casos em Santa Catarina reforçam a necessidade de estudos adicionais para a identificação de vetores e reservatórios, fornecendo subsídios para a compreensão da epidemiologia da LTA no Estado, possibilitando, desta forma, estabelecer planos mais eficientes no controle e prevenção da doença.

O ciclo de transmissão da leishmaniose tegumentar apresenta características peculiares a cada região endêmica, com isso, nem sempre é possível extrapolar dados de uma região para outra, pois, muitas áreas endêmicas apresentam características ambientais diferentes, não coincidindo detalhes do ciclo de transmissão, tais como a presença das mesmas espécies de parasitos, reservatórios silvestres e insetos vetores.

Considerando-se a relevância da doença e a falta de dados epidemiológicos referentes a LTA no estado de Santa Catarina em cães domiciliados, realizou-se o presente estudo, em uma região onde foram constatados casos positivos em humanos, bairro da Barra município de Balneário Camboriú, com os objetivos de determinar o percentual de cães positivos através de sorologia e pelo teste de reação intradérmica e relacionar cães positivos sorologicamente e/ou por intradermorreação com animais que apresentem lesões sugestivas e com os positivos no exame de pesquisa de parasitos.

1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1 O PARASITO

O gênero *Leishmania* compreende protozoários digenéticos da ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae com várias espécies que são responsáveis por um grupo de doenças com apresentações clínicas que variam desde a forma cutânea, cutâneo-mucosa, cutânea disseminada, cutânea difusa (Leishmaniose Tegumentar) até uma forma visceral (Leishmaniose Visceral), conforme a espécie infectante e a condição imunológica do hospedeiro (CRUZ e COUTINHO, 2001).

Apresentam duas formas evolutivas bem definidas e diferenciadas, a amastigota e a promastigota (Figura 1). Morfologicamente a forma amastigota é esférica ou oval e aflagelada, com 3 a 5µm de diâmetro e não possui motilidade. É a forma encontrada parasitando intracelularmente as células do sistema fagocítico mononuclear (SFM) do hospedeiro vertebrado. Mais especificamente, seu habitat são os vacúolos digestivos (fagossomos) de macrófagos que o fagocitam (DIETZE, 2003). O cinetoplasto desta forma possui aspecto baciliforme, reto ou curvo e se mostra como uma estrutura mitocondrial ligada à única mitocôndria existente no protozoário; em seu interior existem estruturas filamentosas circulares, formadas por ácido desoxirribonucleico, denominado de KDNA. O blefaroplasto, ou corpúsculo basal aparece como continuação do flagelo. O aparelho de Golgi, o retículo

endoplasmático, vacúolos e inclusões são também encontrados no citoplasma deste protozoário. O núcleo possui formas variadas, em geral grande e esférico. A membrana citoplasmática possui, na região anterior do corpo do parasito, uma invaginação formando a bolsa flagelar, onde se localiza um flagelo rudimentar (NEVES, 2003).

A forma promastigota é alongada, com 10 a 20 μ m de comprimento, e espessura entre 1,5 e 3 μ m, apresentando a extremidade anterior arredondada e a posterior mais fina. O flagelo longo e livre emerge da parte anterior do corpo do protozoário e confere motilidade à célula. É encontrada no intestino do inseto vetor. Quando a forma amastigota diferencia-se nesta forma, observa-se o desenvolvimento da mitocôndria, que parece expandir-se a partir da parede do cinetoplasto. O núcleo torna-se maior, o aparelho de Golgi mais evidente e o retículo endoplasmático mais abundante. A estrutura dos filamentos de KDNA dentro do cinetoplasto passa a ser mais frouxa, mas este conserva o aspecto (GENARO, 2000).

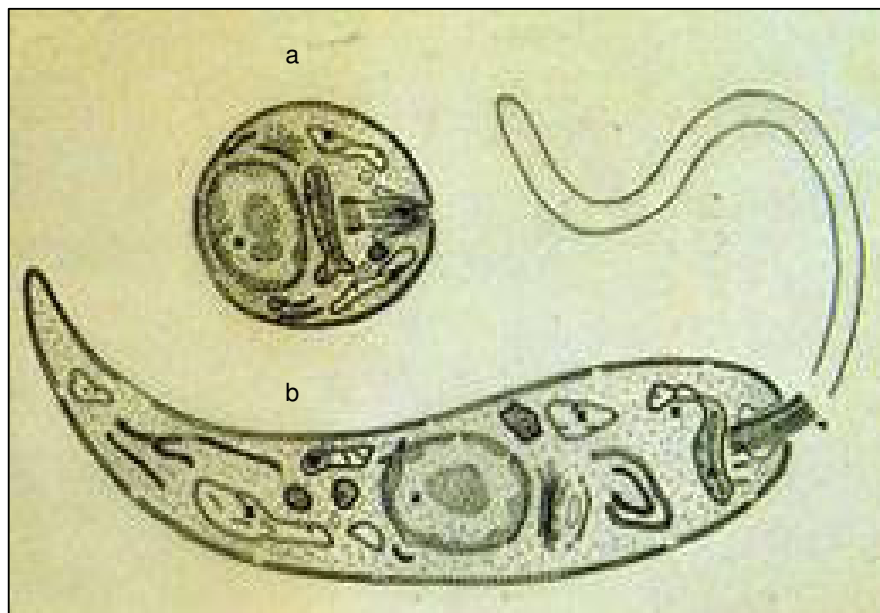


FIGURA 1 - Formas amastigota (a) e promastigota (b) de *Leishmania* spp.

Fonte: <http://www.dbbm.fiocruz.br/tropical/leishman/leishext/html/morfologia.htm>

1.2 CICLO BIOLÓGICO

O ciclo biológico, segundo Marzochi et al. (2002), desenvolve-se basicamente em flebotomíneos e em hospedeiros vertebrados sendo que somente os flebotomíneos fêmeas são hematófagos. Quatro a cinco dias após o repasto infectante de formas amastigotas de *Leishmania*, estas se transformam em promastigotas que passam a se reproduzir por divisão binária podendo seguir dois caminhos, dependendo da espécie do parasito. No primeiro, as formas promastigotas das espécies pertencentes ao subgênero *Viannia* dirigem-se para o intestino onde o colonizam na região do piloro e íleo (seção peripilaria). Nestes locais, ocorre a transformação da promastigota em uma forma intermediária denominada paramastigota que permanece aderida pelo flagelo ao epitélio intestinal, através de hemidesmossomas, onde ainda se divide. Novamente ocorre a transformação em formas promastigotas que migram através do estômago em direção à faringe do inseto. No segundo, as formas promastigotas das espécies pertencentes ao subgênero *Leishmania* multiplicam-se livremente ou aderidos à parede da porção média e anterior do intestino (seção suprapilaria). Em seguida, ocorre a migração para a região anterior do estômago onde se transformam em paramastigotas, colonizando o esôfago e a faringe onde se transformam novamente em promastigotas. Durante o processo de alimentação do flebotomíneo é que ocorre a transmissão do parasito. Na tentativa da ingestão do sangue, as formas promastigotas são introduzidas no local da picada onde são fagocitadas por macrófagos.

A saliva do flebotomíneo possui peptídeos vasodilatadores que atuam facilitando a alimentação do inseto, ao mesmo tempo que possuem propriedades imunomodulatórias, desviando a resposta dada por linfócitos T subpopulações Th1 para aquela dada por subpopulações Th2 favorecendo a evolução da doença (ROJAS e SCORZA, 1995; AIRES et al., 2005).

Após a interiorização das formas promastigotas pelo macrófago, este promove a fusão dos lisossomos com o fagossomo e o parasito, adaptando-se ao novo ambiente, transforma-se em amastigota que passa a se multiplicar intensamente por divisão binária lisando a célula. A forma livre, ao contato com novos macrófagos é novamente fagocitada. A fêmea de *Lutzomyia* se infecta ao exercer sua hematofagia em um mamífero positivo para alguma espécie de *Leishmania*, completando assim o ciclo.

1.3 O INSETO VETOR

As formas promastigotas de leishmanias são transmitidas por fêmeas dos insetos vetores da ordem Diptera, subordem Nematocera, família Psychodidae, subfamília Phlebotominae (GENARO, 2000).

Durante muito tempo, um único gênero, *Phlebotomus* era incluído na subfamília Phlebotominae, mas diversas tentativas têm sido feitas para subdividi-la em um número variável de gêneros e subgêneros (FORATTINI, 1973). Mais de 300 espécies de flebotomíneos são conhecidas nas Américas, mas somente 32 dessas espécies são capazes de transmitir a doença para humanos. Atualmente a tendência é de se considerar a maioria das espécies de importância na transmissão das leishmanioses do Novo Mundo, como pertencentes aos gêneros *Lutzomyia* e

Psychodopygus, este último incluído como subgênero do primeiro por alguns especialistas (YOUNG e DUNCAN, 1994).

1.4 LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA

No continente americano, o gênero *Leishmania* ocorre desde o Sul dos Estados Unidos até o Norte da Argentina, num total de 22 países (DEDET, 1993), onde distribuem-se pelo menos 20 espécies, das quais 13 estão associadas à LTA no homem, causando diversas formas clínico-epidemiológicas da doença. No Brasil, a LTA está representada por seis espécies sendo as mais importantes, sob ponto de vista nosológico humano, a *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *Leishmania (Leishmania) amazonensis* e a *Leishmania (Viannia) guyanenses* (CUPOLILLO et al., 1994).

A *Leishmania (V.) guyanensis* está presente na Venezuela, Guiana, Suriname, Guiana Francesa e Brasil (Amapá, Roraima, Amazonas e Pará), principalmente em áreas que não se alagam no período de chuvas (florestas de terra firme) onde é mantida principalmente por preguiça de dois dedos (*Choloepus didactylus*), tamanduá (*Tamandua tetradactyla*), marsupiais (*Didelphis marsupialis*) e roedores do gênero *Proechimys*. A transmissão se dá pelas espécies *Lutzomyia umbratilis* e *Lu. anduzei* (DIAS-LIMA et al., 2002). Causa ulcerações simples ou múltiplas, com metástases ao longo dos trajetos linfáticos e é muito raro o comprometimento mucoso (FUNASA, 2000).

Em áreas de florestas primárias e secundárias tipo várzea e igapó (alagáveis) da Região Amazônica (Amazonas, Pará e Tocantins), é encontrada a *Leishmania (L.) amazonensis*. Entretanto, foram descritos casos isolados também no Maranhão

(COSTA et al., 1992), Bahia (BARRAL et al., 1991), Rio de Janeiro (AZEREDO-COUTINHO et al., 2007), Santa Catarina (GRISARD et al., 2000; MACHADO, 2004), Ceará, Minas Gerais e Mato Grosso (GRIMALDI et al., 1989), Mato Grosso do Sul (DORVAL et al., 2006) e Paraná (SILVEIRA et al., 1990). A *Leishmania (L.) amazonensis* provoca lesões cutâneas únicas ou em pequeno número, que poucas vezes se curam espontaneamente. Não origina metástases mucosas, e está muito relacionada com a leishmaniose cutâneo-difusa ou forma anérgica (disseminada) da doença. Tem como hospedeiros naturais roedores, principalmente dos gêneros *Proechimys* e *Oryzomys*, além de marsupiais (*Didelphis*). A doença humana é relativamente rara e o principal vetor é o *Lutzomyia flaviscutellata* de característica pouco antropofílica (WARD et al., 1973; LAINSON et al., 1987).

A *Leishmania (V.) braziliensis* apresenta distribuição em todo território nacional, além de vários países da América Central e do Sul (de Berlize até a Argentina) e é a mais importante das espécies associadas à LTA (MARZOCHI e MARZOCHI, 1994). Existem poucas informações sobre seus hospedeiros silvestres, tendo sido incriminados mamíferos silvestres do gênero *Akodon*, *Proechimys*, *Rattus*, *Oryzomys* e *Rhipidomys* (ALENCAR, et al., 1960; FORATTINI et al., 1972, 1973; BRANDÃO FILHO et al, 2003;) e o marsupial *Didelphis* (LAINSON, 1997). Apresenta como vetor, na Serra dos Carajás, o flebotomíneo *Psychodopygus wellcomei* (antropofílico, com picadas diurnas e de maior atividade nas estações de chuva) além de outras espécies que vêm se adaptando em áreas peridomésticas (*Lutzomyia intermedia*, *Lu. withmani* e *Lu. migonei*), e ainda as de florestas primárias (*Lu. pessoai* e *Lu. carrerari*) (FUNASA, 2000). Na transmissão peridoméstica, apresentam-se como hospedeiros: cavalos, cães, jumentos e até gatos (SCHUBACH et al., 2004). Causa no homem a leishmaniose cutânea (LC) e a leishmaniose

mucocutânea (LMC), principais formas de manifestações da LTA. A LC é a manifestação clínica mais freqüente (50 a 75% dos casos) (NAME et al., 2005) e se caracteriza por uma lesão dérmica ulcerada (raramente múltipla) expansiva e persistente, localizada na região da picada do inseto vetor, que aparece após um período de incubação que varia geralmente de um a três meses, podendo se estender até um ano. Esta lesão inicialmente é pequena, eritematosa, consistente, e seu diâmetro aumenta gradualmente até ulcerar. A lesão ulcerada progride e atinge de 3 a 12 cm de diâmetro com borda elevada bem característica, em moldura de quadro e base granulosa que sangra facilmente (FERNANDES et al., 2004). O curso da lesão pode cessar espontaneamente, num período variável, ou após terapêutica específica, originando uma lesão cicatricial onde é possível demonstrar o parasito mesmo após anos de cura clínica (VALE e FURTADO, 2005). Admite-se ainda, que cerca de 3 a 5% dos casos de LC desenvolvem uma forma mucocutânea (LMC) em pacientes não tratados durante a fase ativa da lesão cutânea e que se caracteriza por lesões nasofaringeanas destrutivas e desfigurantes (SALGADO e LOUREIRO, 1966).

Em cães, quando a infecção se dá pela *Leishmania (V.) braziliensis* as lesões se apresentam inicialmente como pápulas, nódulos ou simples endureção, localizados preferencialmente em áreas de pouco pêlo como focinho, bolsa escrotal, orelhas e extremidades. Com a evolução, estes nódulos ulceram. As úlceras são arredondadas, bem delimitadas, com bordas elevadas, centro granuloso e coloração avermelhada. Não são dolorosas, nem pruriginosas e não comprometem o estado geral do animal. Uma pequena parcela de cães pode apresentar envolvimento das mucosas (PIRMEZ et al., 1988; MARCO et al., 2001). Estas lesões apresentam um comportamento cíclico entre lesão e cicatriz, por toda a vida do animal. Regridem

espontaneamente, e após um período de semanas ou meses, tornam-se novamente ativas (MARZOCHI, 1992; THOMÉ, 1999). A manifestação clínica no cão é semelhante a da doença humana, inclusive no que diz respeito à resposta ao tratamento com antimoniais, apesar das recorrências que podem ocorrer nos cães (PIRMEZ et al., 1988).

A LTA humana, principalmente aquela associada à *Leishmania (V.) braziliensis*, apresenta nos últimos anos um processo de expansão em todas as regiões do Brasil, tanto em áreas notoriamente endêmicas como incidência em novas áreas, inclusive na periferia de grandes cidades como Manaus, Rio de Janeiro e Belo Horizonte, constituindo novo problema de saúde pública (PASSOS et al., 2001; GUERRA et al., 2006). O processo de urbanização da doença pode estar relacionado a vários fatores tais como: as características ecológicas de cada região, a infectividade das espécies de leishmanias, os hábitos e biologia dos flebotomíneos de importância na transmissão da doença e a proporção de indivíduos susceptíveis. Tudo isso em sinergia com um ambiente onde a ocupação e as transformações ambientais são, em um cenário de pobreza, feitas de forma desordenada.

Ocorrem anualmente cerca de 1,5 milhões de casos de LT e 100.000 a 500.000 de Leishmaniose Visceral (LV) no Mundo, sendo que 90% dos casos de Leishmaniose Tegumentar (LT) ocorrem nos seguintes países: Irã, Afeganistão, Síria, Arábia Saudita, Peru e Brasil e 90% dos casos de LV ocorrem na Índia, Sudão, Bangladesh e Brasil (WHO-World Health Organization, 2005).

1.5 LEISHMANIOSE TEGUMENTAR EM SANTA CATARINA

Em Santa Catarina, São Thiago e Guida (1990) realizaram investigações

clínico-epidemiológicas em 22 pacientes suspeitos de LTA nos municípios de Quilombo e Coronel Freitas, região oeste do Estado, onde observaram que 14 foram casos confirmados, 11 dos quais autóctones, estabelecendo assim, pela primeira vez, a existência de um foco da doença no Estado.

Lima Filho e Steindel (1998) realizaram estudos clínico-epidemiológicos de casos de leishmaniose atendidos no laboratório de Protozoologia da Universidade Federal de Santa Catarina no período de 1993 a 1998 e verificaram a ocorrência de leishmaniose cutânea e mucocutânea em Santa Catarina. Neste estudo foi identificado um novo foco de transmissão da doença no município de Piçarras, na região nordeste do Estado. Em outro estudo, Machado (2004) avaliando 53 amostras suspeitas de LTA verificou a predominância de *Leishmania (V.) braziliensis* em 34 delas, sendo seis autóctones. Dois casos estavam relacionados à infecção por *Leishmania (L.) amazonensis*, sendo um caso importado do Mato Grosso e outro caso autóctone do município de Piçarras/SC. Dos 34 pacientes com infecção por *Leishmania (V.) braziliensis*, 25 apresentavam de uma a duas lesões ulceradas, quatro apresentavam mais de três lesões, quatro apresentaram a forma mucocutânea e um apresentava a forma disseminada da doença. Os dois casos de infecção por *Leishmania (L.) amazonensis* foram de lesão única. Neste estudo, verificou-se o primeiro caso de leishmaniose mucocutânea autóctone em um paciente do município de Penha na região Nordeste do Estado.

Em estudos anteriores foi verificada a presença de *Leishmania (L.) amazonensis* em dois casos autóctones (municípios de Quilombo e Coronel Freitas) na região Oeste do Estado e a presença de *Leishmania (V.) braziliensis* em casos autóctones nos municípios de Chapecó e Piçarras, nas regiões Oeste e Nordeste do Estado, respectivamente (GRISARD et al., 2000).

No município de Balneário Camboriú, as primeiras notificações de casos autóctones de LTA ocorreram em 2005 nas quais foi identificado como agente *Leishmania (V.) braziliensis* (EGER-MANGRICH et al., 2005).

No período de 2001 a 2006, segundo o Ministério da Saúde, foram confirmados casos autóctones nos seguintes municípios de Santa Catarina: Aurora (2 casos). Balneário Barra do Sul (1), Balneário Camboriú (37), Blumenau (52), Botuverá (4), Camboriú (10), Caxambu do Sul (1), Corupá (4), Florianópolis (1), Guaraciaba (2), Itajaí (2), Itapema (17), Jaraguá do Sul (5), Jupiá (1), Massaranduba (2), Piçarras (9), Presidente Nereu, (1), (MINISTÉRIO DA SAÚDE/Sistema de Vigilância em Saúde-SVS, 2007). Por estes dados verifica-se a expansão da LTA no Estado e a necessidade de atenção e de um maior estudo, quanto a participação de animais domésticos no perfil epidemiológico das respectivas áreas endêmicas.

Estudos da fauna flebotomínea nas áreas de ocorrência de casos de LTA nos municípios de Blumenau (SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE/SC – Divisão de Vigilância Epidemiológica-DIVE, 2006) e Piçarras (MARCONDES et al., 2005) revelaram a presença predominante de *Lutzomyia neivai*, espécie altamente antropofílica e apontada como provável vetor da doença naquelas localidades (CASANOVA et al., 2005).

Até o momento, nenhum trabalho foi publicado sobre os reservatórios silvestres e domésticos nos focos de LTA no estado de Santa Catarina.

1.6 LEISHMANIOSE TEGUMENTAR CANINA

A existência de animais silvestres como fonte natural de infecção, ainda insuficientemente estudada, parece incapaz de explicar a totalidade dos casos

humanos, levando a supor que existam outros ciclos, onde o homem e animais domésticos participam (SANTOS, 1997; MARZOCHI, et al., 2002), o que é agravado pela adaptabilidade de certas espécies vetoras a ambientes antrópicos.

A participação do cão na epidemiologia da LT só veio ser mais bem estudada a partir das últimas três décadas, notadamente na região Sudeste, pois constatações anteriores apenas o colocavam numa posição secundária, cujo acometimento era considerado acidental. No entanto, alguns pesquisadores já suspeitavam e discutiam sobre seu provável envolvimento na cadeia epidemiológica dessa doença.

O primeiro diagnóstico de um cão naturalmente parasitado pela *Leishmania*, com leishmaniose tegumentar coube a Pedroso em 1913 (apud BARBOSA, 1997, p. 4). A verificação experimental da susceptibilidade desta espécie, no entanto, deve-se a Pirmez et al. (1988) que constataram ainda que esta espécie era a que mais se aproximava da infecção humana, como também a constatação da recidiva da doença canina, mesmo após tratamento. Trabalhos mais recentes têm demonstrado ser relativamente comum a presença de cães infectados por *Leishmania (V.) braziliensis* em diferentes focos de LTA. Assim, pesquisa realizada em 126 cães de área endêmica no município de Mariluz (PR) revelou uma soroprevalência de 19% (LONARDONI et al., 2006). Em outro estudo, no Noroeste do Paraná, município de Jussara, onde Lonardon et al. (1993) já havia detectado LTA em três cães, Silveira et al. (1996), obtiveram positividade em 18,2% de 132 cães avaliados sorologicamente. No estado do Rio de Janeiro vários levantamentos sorológicos de cães em municípios endêmicos foram realizados, destacando-se os estudos de Barbosa et al. (1999), Madeira et al. (2000), Uchôa et al. (2001), Madeira et al. (2003), Serra et al. (2003) e Santos et al. (2005) que obtiveram positividade de 3,2%,

11,94%, 0,4%, 25%, 13,2% e 16,7% respectivamente.

Segundo Falqueto et al. (1986), a ocorrência de LTA no estado do Espírito Santo evidencia a nítida relação de cães infectados e o surgimento de novos casos humanos, acreditando que a doença se mantém como uma provável antroponose entre os cães domésticos naquela região. Aguilar et al. (1989), observaram a endemicidade de LTA canina entre duas áreas geograficamente distintas, encontrando uma positividade de 3% em Solano, na Venezuela e 18% em Mesquita na cidade do Rio de Janeiro, Brasil. As cepas isoladas foram caracterizadas como *Leishmania (V.) braziliensis*, em ambas as áreas. Este achado, segundo o autor, fortalece a idéia de que o cão mantém as características zoonóticas da leishmaniose. Maywald et al. (1993), através de inquérito soropidemiológico em áreas urbana e rural no município de Uberlândia, Minas Gerais, constataram que 1% dos cães da área rural foram positivos para LTA e 10,6% foram positivos na área urbana, concluindo que esta espécie, nas áreas em estudo, pode representar um importante papel como reservatório da infecção, podendo participar da disseminação de novos focos de endemia também em área urbana. Para tal achado foi utilizada a técnica sorológica de imunofluorescência indireta (RIFI). Anteriormente, Cardoso et al. (1989), realizando levantamento sorológico em cães de áreas rural e urbana daquele mesmo Município obtiveram positividade de 22,52% concluindo ser o cão um importante reservatório de LTA naquela localidade. Gontijo et al. (2005) estudando aspectos clínicos e epidemiológicos da LTA no município de Araçuaí, Minas Gerais, concluíram ser o cão o responsável pela manutenção do ciclo peridoméstico naquela localidade, tendo obtido uma soroprevalência de 20,3%. No município de Porto Alegre, estado do Rio Grande do Sul, em um levantamento sorológico canino realizado por Jesus et

al. (2006) foi considerado importante o papel desta espécie, como fonte de infecção de LTA naquele foco endêmico, apesar da baixa positividade (3,5%) e da ausência de sintomas nos animais.

1.7 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico de LTA abrange aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais (pesquisa parasitológica e diagnóstico imunológico). Frequentemente a associação de alguns desses elementos é necessária para o diagnóstico final (SANTOS, 1997).

O diagnóstico clínico deve ser realizado com base nas características da lesão, associadas à anamnese, onde os dados epidemiológicos são de grande importância. No diagnóstico diferencial as lesões de cães com LTA devem ser diferenciadas das úlceras traumáticas, neoplasias cutâneas, piodermites e esporotricose. A pesquisa do parasito é realizada por meio de diferentes técnicas de pesquisas direta e indireta. O exame mais simples é o da pesquisa direta das formas amastigotas em material obtido da lesão através da escarificação, aspiração ou biópsia de borda, corado pelo método de Giemsa ou Leishman, podendo-se utilizar o panóptico rápido como técnica alternativa (FUNASA, 2000). A chance de encontrar o parasito é inversamente proporcional ao tempo de duração da lesão e nos casos de *Leishmania (V.) braziliensis* está, segundo Gontijo e Carvalho (2003), em torno de 100% nos dois primeiros meses de evolução, 75% aos seis meses e 20% após os 12 meses.

Como métodos indiretos de evidenciação do parasito utilizam-se a histopatologia, o cultivo e a inoculação em animais de laboratório. A histopatologia

possibilita a observação de formas amastigotas e a visualização de outros agentes como fungos e bactérias, além de permitir o diagnóstico diferencial com outras doenças tumorais e inflamatórias. Basicamente constata-se um quadro de infiltrado inflamatório mononuclear misto e que, nos casos de *L. (V.) braziliensis*, há escassez de parasitos, mas que, quando existentes, podem estar localizados dentro de macrófagos ou livres. Em lesões antigas, o processo inflamatório se organiza formando granulomas tuberculóides (FALQUETO e SESSA, 2002).

Para o cultivo do parasito, utilizam-se fragmentos de tecidos, ou material obtido através de punção aspirativa. São utilizados meios de cultura a base de ágar-sangue difásico, com uma fase sólida do tipo NNN (Neal, Novy e Nicolle) e uma fase líquida como LIT (Liver Infusion Tryptose) freqüentemente associados a antibióticos. O material é incubado a 28°C, sendo realizados exames semanais a partir do 5º dia em busca de formas promastigotas.

A inoculação em animais, especialmente hamsters (*Mesocricetus auratus*), é feito através do material (biópsia) coletado da lesão, o qual é triturado e após ser adicionado de salina e antibiótico, é inoculado via intradérmica no focinho ou patas. As lesões no hamster desenvolvem-se a partir de 30 dias e a pesquisa de formas amastigotas é realizada por técnica direta.

Pelo teste intradérmico (Intradermorreação) avalia-se a reação de hipersensibilidade tardia. É realizado, em cães, injetando-se por via intradérmica, na face interna da coxa, 0,1mL de uma suspensão contendo 2,0mg de proteínas totais, do antígeno, por mL, elaborado com promastigotas de *Leishmania (V.) braziliensis*. O local do inóculo é devidamente demarcado (caneta esferográfica) e a leitura realizada após 48 horas. Considera-se positiva a área edemaciada com presença de eritema com diâmetro igual ou superior a cinco milímetros (SANTOS et al., 1998;

RODRIGUES, 1999).

A Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) é o método sorologicamente mais utilizado para o diagnóstico da LTA. Consideram-se como positivas as amostras que apresentarem fluorescência em diluições iguais ou maiores que 1/40. Os títulos de anticorpos geralmente são baixos em casos com lesão cutânea recente, mas podem estar aumentados nas formas crônicas da doença, especialmente em casos de envolvimento mucoso. Como o teste não é espécie-específico, podem ocorrer reações cruzadas, por exemplo, com *Trypanosoma cruzi* e *Ehrlichia canis* (UCHÔA et al., 2001), dificultando o seu uso, como método diagnóstico único, em áreas endêmicas onde atuam estes agentes.

A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR- *polimerase chain reaction*), outro exame utilizado no diagnóstico da Leishmaniose, é feita com material da biópsia da borda das úlceras buscando-se identificar o DNA da *Leishmania*, sendo possível, através desta técnica, identificar o agente etiológico em nível de espécie (MADEIRA et al., 2006), porém é uma técnica onerosa, que necessita de equipe especializada e infra-estrutura adequada o que a torna, muitas vezes, inacessível (SAMPAIO et al., 2002).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 DESCRIÇÃO DA ÁREA E PERÍODO DE COLETA DE DADOS

O município de Balneário Camboriú está localizado no litoral de Santa Catarina, latitude 26° 59' 27" Sul e longitude 48° 38' 06" Oeste. Segundo o último censo do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE – Censo 2007), a população era de 94.344 habitantes sendo totalmente urbana. A base de seu suporte financeiro é o turismo.

A área estudada pertence ao bairro da Barra, com uma população de 4.219 habitantes (IBGE - Censo 2000), local onde foram notificados no final do ano de 2005 e início de 2006, casos de LTA humana.

A coleta de dados, no local, foi realizada nos meses de janeiro e fevereiro de 2007 e os demais dados, que dependeram de processamento e análise do material, no período de fevereiro a abril do mesmo ano.

2.2 POPULAÇÃO DE ESTUDO

A partir de residências onde foram diagnosticados casos de leishmaniose tegumentar em humanos de, foram realizadas visitas aos residentes, coabitantes com cães, em um raio de um quilômetro. Inicialmente foi preenchida uma ficha para

cada animal, com dados clínico-epidemiológicos (Anexo A).

O projeto foi submetido e recebeu a aprovação do Comitê de ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina (CETEA/CAV), protocolo 1.25/06, e do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) da mesma Universidade.

2.3 TESTE INTRADÉRMICO

Foi realizado o inóculo intradérmico de 0,1mL de antígeno¹ na face interna da coxa direita de cada cão a ser estudado. O local do inóculo foi devidamente dermatografado e a leitura realizada após 48 horas. Foram consideradas positivas as reações (enduração) de diâmetro igual ou superior a cinco mm, aferidas por meio de um paquímetro.

2.4 DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO

Durante a coleta de sangue, os cães foram examinados em busca de lesões cutâneas compatíveis com LTA. Quando presentes, estas foram escarificadas e o material obtido fixado com metanol em lâminas, corado pelo método de Giemsa e examinado ao microscópio óptico (objetiva 100X e ocular de 10X) para pesquisa de formas amastigotas.

¹Immunoleish[®], de uso veterinário, contém 2mg de proteínas totais de leishmania /mL (cedido pela pesquisadora Elizabeth G. O. Barbosa Santos da Escola Nacional de Saúde Pública da FIOCRUZ, Rio de Janeiro)

2.5 DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO

2.5.1 Coleta de Amostras de Sangue

As amostras de sangue dos cães foram coletadas por punção da veia jugular externa e acondicionadas em tubos de ensaio sem anticoagulante. Os soros foram aliquotados (100 μ L), identificados e armazenados na temperatura de -18°C. As amostras foram posteriormente enviadas ao Departamento de Ciências Biológicas da Escola Nacional de Saúde Pública da Fundação Oswaldo Cruz (DCB-ENSP/FIOCRUZ) para a realização de Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e Ensaio Imunoenzimático (ELISA).

2.5.2 Reação de Imunofluorescência Indireta

As amostras de soros dos cães foram analisadas pela RIFI, utilizando-se como antígeno formas promastigotas de *Leishmania (V.) braziliensis* íntegras e preservadas em formalina a 2%.

Foram utilizadas lâminas de vidro (Perfecta n° 4) que depois de desengorduradas e secas, recebiam 10 μ L de antígeno sobre as áreas demarcadas para logo em seguida serem secas em estufa por uma hora a 37°C. Os soros foram diluídos (1:40 e 1:80) em PBS (solução tampão fosfato 0,01M, pH 7,2), utilizando-se 10 μ L de cada diluição de soro sobre as áreas demarcadas para reagir com o antígeno. As lâminas foram incubadas a 37°C por 30 minutos em câmara úmida. Em seguida procedeu-se a lavagem das lâminas por cinco minutos, três vezes, em PBS e a secagem em estufa a 37°C por 15 minutos. A seguir, as áreas demarcadas foram cobertas com 10 μ L do conjugado fluorescente anti-IgG de cão diluído em PBS contendo Azul de Evans. Após nova incubação a 37°C por 30 minutos em câmara

úmida, as lâminas foram novamente lavadas, três vezes, por cinco minutos em PBS e secas em estufa a 37°C por 15 minutos. Após, as lâminas foram montadas com glicerina tamponada e recobertas por lamínulas e observadas em microscópio óptico de epifluorescência. Consideraram-se positivas as amostras com título maior ou igual a 40.

2.5.3 Ensaio Imunoenzimático.

O antígeno, previamente titulado, foi diluído em tampão carbonato-bicarbonato pH 9,6 e, desta solução, 100µL foram transferidos para uma placa de poliestireno do tipo rígida, possuindo 96 cavidades com fundo plano. Para efetuar a sensibilização, as placas foram incubadas por duas horas a 37°C em câmara úmida ou colocadas na refrigeração a 8°C (geladeira) *overnight*. Após a incubação (geladeira ou estufa) as placas foram lavadas quatro vezes com solução de lavagem PBS-Tween (PBS com 0,05% de Tween 20) para retirar os antígenos não ligados à placa.

O soro foi diluído em solução de leite em pó desnatado² a 1% em PBS-Tween a 1:20 e distribuído na placa (100µL) nas cavidades em duplicatas e incubada a 37°C por 30 minutos em câmara úmida. A seguir, a lavagem foi repetida, quatro vezes, pelo mesmo processo descrito anteriormente.

O conjugado anti-IgG canino, marcado com peroxidase, foi diluído conforme titulação prévia, em solução de leite desnatado a 1% em PBS-Tween e então distribuído nas cavidades da placa na quantidade de 100µL e novamente incubadas a 37°C por 30 minutos. Após a lavagem das placas, como já descrito, colocou-se 100µL por poço de solução reveladora, preparada previamente, e depois de uma

² Molico®, Nestlé Brasil Ltda.

Incubação de 10 minutos em temperatura ambiente, ao abrigo da luz, realizou-se o bloqueio da reação com a adição de 50µL de ácido sulfúrico 1N. A leitura foi realizada em espectrofotômetro com filtro operacional de 492nm e filtro diferencial de 600nm.

2.6 CRITÉRIOS PARA CONSIDERAR O ANIMAL POSITIVO

Consideraram-se cães infectados aqueles que foram reagentes a pelo menos uma das técnicas diagnósticas utilizadas (RIFI, ELISA, teste intradérmico e/ou exame parasitológico direto).

2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados das variáveis contidas na ficha clínico-epidemiológica foram submetidos à análise estatística pelo teste do Qui-quadrado e adotou-se 5% de nível de significância.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram visitadas, no município de Balneário Camboriú (SC), bairro da Barra, 178 residências e avaliados 275 cães perfazendo a média de 1,5 cães por habitação. Em 13 destas, havia diagnóstico de LTA em humanos.

Com relação ao sexo dos cães, 166 eram machos (60,4%) e 109 fêmeas (39,6%), quanto a raça, 197 (71,6%) eram sem raça definida (SRD) e 78 (28,4%) pertenciam a várias raças.

A presença de animais silvestres no peridomicílio foi observada e relatada por moradores de 51 residências (28,6%), predominando a presença das ordens Marsupialia e Rodentia, como gambá (*Didelphis marsupialis*) e roedores diversos.

Considerando ainda o ambiente domiciliar, observou-se que 76 (42,7%) dos domicílios visitados estavam situados a menos de 50 metros da mata, sendo que 21 deles (11,8%) situavam-se em área de mata.

Na Tabela 1 constam os dados referentes a caracterização da amostra.

Os cães recenseados foram agrupados de acordo com a atividade: andejos - animais com liberdade de circularem pelo bairro retornando a residência para se alimentar e dormir, que totalizaram 118 (42,9%) e os caseiros – cães com atividade limitada, mantidos nas residências, e que consistiam de 157 (57,1%).

TABELA 1– Caracterização da amostra segundo idade, atividade, presença de infecção humana (LTA) na residência, sinais clínicos, exame sorológico, reação intradérmica e total de cães com infecção pela LTA, em Balneário Camboriú, SC.

Variáveis	n (275)	%
Idade (anos)		
< 1	36	13,1
1-4	171	62,2
> 4	68	24,7
Atividade		
Andejo	118	42,9
Caseiro	157	57,1
Infecção Humana		
Sim	18	6,5
Não	257	93,5
Sinais Clínicos*		
Sim	7	2,5
Não	268	97,5
Exame Sorológico**		
Positivo	20	7,3
Negativo	255	92,7
Reação Intradérmica		
Positiva	5	1,8
Negativa	270	98,2
Infecção LTA		
Sim	24	8,7
Não	251	91,3

*Sinais clínicos sugestivos de Leishmaniose Tegumentar

** RIFI e/ou ELISA

Lesões cutâneas sugestivas de LTA foram identificadas em sete animais (2,5%), sendo dois (0,7%) lesão cicatricial (Figura 2). As lesões localizavam-se no pavilhão auricular, três (1%); focinho, um (0,4%); bolsa escrotal, dois (0,7%) e membro posterior, um (0,4%). As lesões ulceradas eram únicas e úmidas (Figuras 3, 4 e 5), compatíveis com as características descritas para as lesões causadas por parasitos do complexo *Leishmania braziliensis* (PIRMEZ et al., 1988). Ao exame parasitológico direto, por meio da escarificação, não foi possível a visualização das formas amastigotas do parasito.

Em uma investigação de cães residentes em áreas endêmicas de LTA humana no Norte do Paraná realizada, Zanzarini et al. (2005), verificaram que 14 animais (20,9%) apresentavam lesão, dos quais apenas três (21,4%) foram positivos na RIFI e na pesquisa direta do parasito de *Leishmania* spp. Nove (81,8%) dos 11 cães com lesão e pesquisa direta do parasito negativa, apresentaram RIFI positiva, demonstrando que apesar de não ter sido encontrado parasito nas lesões, esses animais poderiam estar infectados por *Leishmania* spp. A baixa positividade da pesquisa direta do parasito pode ser em consequência da escassez de parasitos nas lesões de cães, como constatado por Marco et al. (2001). Desta forma, o diagnóstico da LTA canina deve levar em consideração a eventual presença de quadros dermatológicos incomuns, a dificuldade de encontro do parasito e a possível variação na resposta imune individual. Além disso, apesar de ser simples e de baixo custo o exame direto para detecção do parasito possui uma sensibilidade inversamente proporcional ao tempo de evolução da lesão (BELLI et al., 1998; MEDEIROS et al., 2002; MOTAZEDIAN et al., 2002).

Falqueto et al. (1986) estudaram 186 cães de uma região endêmica do Espírito Santo e constataram que 46 apresentavam lesões suspeitas e 31 estavam parasitados por leishmanias. Dias et al. (1977) investigaram 355 cães em área endêmica de Minas Gerais e encontraram 27 com lesões ou manchas hipocrômicas, sendo que em apenas seis o esfregaço foi positivo. Para estes últimos autores, o esfregaço não constitui processo ideal para diagnóstico de leishmaniose tegumentar, devido ao baixo número de parasitos presentes nas lesões, o que talvez justifique os resultados negativos deste trabalho onde, apesar de terem sido encontrados sete (2,5%) animais com lesões suspeitas, quatro deles positivos através de outras técnicas (intradermorreação e/ou sorologia), não foi possível a demonstração do

parasito pelo exame parasitológico direto (escarificação). Por isso, em cães com lesões sugestivas, provenientes de áreas endêmicas, Madeira et al. (2000) sugeriram que seja realizado o acompanhamento periódico com o objetivo de confirmar o diagnóstico da LTA.



FIGURA 2 Lesão cicatricial sugestiva de LTA em pavilhão auricular de canino de Balneário Camboriú, SC.

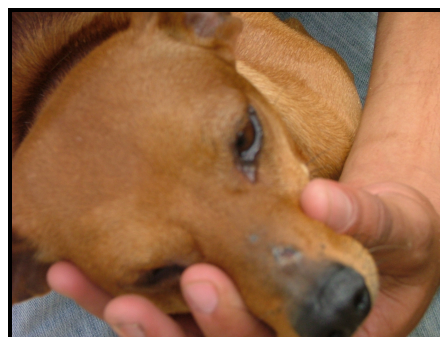


FIGURA 3 Lesão sugestiva de LTA no focinho de canino de Balneário Camboriú, SC.



FIGURA 4 Lesão sugestiva de LTA na face interna do membro posterior de canino de Balneário Camboriú, SC.



FIGURA 5 Lesão sugestiva de LTA no pavilhão auricular de canino de Balneário Camboriú, SC.

Na pesquisa sorológica de anticorpos anti-*Leishmania* verificou-se positividade em três (1,1%) para RIFI e em quatro (1,5%) para ELISA e, para ambos os testes, 13 (4,7%). Dos cães sorologicamente positivos apenas dois apresentaram lesão suspeita para LTA, sendo um com lesão cutânea localizada na bolsa escrotal e outro com lesão no pavilhão auricular. A RIFI é a técnica de referência para o estudo de soroprevalência da LTA canina no Brasil devido a sua maior especificidade e títulos significativos de anticorpos têm sido demonstrados em cães portadores ou não de lesões. A não reatividade do teste de RIFI diante da positividade no ELISA em alguns cães, neste estudo, pode ser explicada pela maior sensibilidade deste último. No entanto, quando aplicado em estudos epidemiológicos na LTA, a especificidade do ELISA pode tornar-se baixa, devido à ocorrência de reações inespecíficas (UCHÔA et al., 2001).

A taxa de 5,8% para RIFI obtida neste estudo pode ser considerada baixa quando comparada com outras pesquisas realizadas em diferentes regiões do Brasil cujas taxas de soropositividade obtidas variaram de 3,2% a 22,52%. O percentual foi menor que os obtidos por Cardoso et al. (1989), Silveira et al. (1996), Madeira et al. (2000), Uchôa et al. (2001), Serra et al. (2003), Gontijo et al. (2005), Santos et al. (2005) e Lonardonni et al. (2006), todavia, maior que os percentuais obtidos por Barbosa et al. (1999) e Jesus et al. (2006). Os resultados evidenciam a importância dos cães como possíveis reservatórios e a necessidade de mais estudos para avaliar a participação destes, no ciclo epidemiológico da LTA no Município.

Pelo teste intradérmico realizado em todos os 275 cães, verificou-se reação hipersensibilidade tardia positiva em apenas cinco animais (1,8%), destes, apenas dois apresentavam lesão sugestiva para LTA, sendo um com lesão cutânea na face interna do membro posterior (Figura 4) e outro, portador de uma cicatriz em bolsa

escrotal (Figura 6).

Estes resultados devem-se, provavelmente, ao período epidemiológico em que se encontra a infecção canina na área estudada, ou seja, num processo de transmissão recente. Esta hipótese é reforçada quando se observa que 21% dos animais positivos possuem até um ano de idade assim como o perfil epidemiológico evidenciado, com uma maior proporção de sorologia positiva (7,3%) sobre o teste cutâneo positivo (1,8%). Segundo Marzochi et al. (1980) os exames sorológicos podem positivar em animais com lesões ativas, infecções subclínicas ou podem indicar infecções recentes (sem lesões), como é o caso sugerido neste estudo, uma vez que a presença de lesão sugestiva para LTA ocorreu em apenas 2,5% dos animais. A vantagem da utilização do antígeno intradérmico (immunoleish[®]) sobre a sorologia é a sua facilidade de execução no campo, oferecendo um diagnóstico rápido, em 48h, que poderá ser executado durante a aplicação do teste de Montenegro, nos inquiridos humanos (SANTOS, 1997).

A inexistência de cães com lesões suspeitas em áreas endêmicas de LTA humana não significa, segundo Cardoso et al. (1989), que a doença canina não seja ativa. Os autores consideraram a soropositividade na RIFI como indicativo de infecção canina. A presença de cães sem lesão e com sorologia positiva em áreas endêmicas também foi reportada por outros autores (MARZOCHI e SANTOS, 1988; PIRMEZ et al., 1988, MADEIRA et al., 2000; SANTOS et al., 2005).



FIGURA 6 - Lesão cicatricial em bolsa escrotal, sugestiva de LTA, em canino com reação intradérmica positiva (seta), de Balneário Camboriú, SC.

Somando os cães positivos seja pelo inquérito cutâneo e/ou pelos exames sorológicos obteve-se um total de 24 (8,7%) de animais positivos para LTA no município de Balneário Camboriú, SC (Tabela 2).

TABELA 2 – Distribuição dos cães positivos segundo sexo, idade, atividade, proximidade da floresta e presença de caso humano de LTA na residência, em Balneário Camboriú, SC.

Identificação			PF (m)	atividade	IH	IDR	RIFI	ELISA
nº	sexo	idade						
1	M	2a	50	C	Não	-	+	+
2	M	2a	50	A	Não	-	+	-
3	M	2a	50	C	Sim	+	+	+
4	M	3a	50	C	Sim	-	+	+
5	M	15a	50	C	Não	-	+	+
6	M	3a	50	A	Não	-	+	-
7	F	7a	100	C	Não	-	+	+
8	M	6m	100	C	Não	-	+	-
9	F	6a	>500	C	Não	-	+	+
10	F	4a	50	A	Não	-	-	+
11	M	8m	50	C	Não	+	-	-
12	F	4a	NM	C	Sim	-	+	+
13	M	2a	NM	A	Sim	-	+	+
14	M	3a	NM	A	Sim	-	+	+
15	M	5a	NM	C	Não	+	-	-
16	F	1a	NM	A	Não	-	+	+
17	F	5a	50	C	Não	-	+	+
18	M	9m	50	A	Não	-	+	+
19	M	3a	50	A	Não	-	+	+
20	M	1a	50	C	Não	-	-	+
21	M	3a	100	A	Não	+	-	-
22	M	4a	50	A	Sim	+	-	-
23	M	2a	NM	A	Não	-	-	+
24	F	3a	NM	A	Não	-	-	+

PF (m)= proximidade da floresta (metros), NM= na mata, C=caseiro, A= andejo, IH= infecção humana na residência, IDR= intradermorreação, RIFI= reação de imunofluorescência indireta, ELISA= ensaio imunoenzimático, += positivo, -= negativo

Não houve diferença estatística com relação idade dos animais e a positividade do exame sorológico (RIFI e ELISA). Também não se verificou, associação estatística entre positividade sorológica e a presença, ou não, de infecção humana na residência, distância da residência em relação à floresta, bem como atividade dos cães (andijos ou caseiros). A não diferença estatística nas variáveis apontadas, possivelmente deve-se ao pequeno número de casos positivos. (Tabela 3).

TABELA 3 – Número da sorologia pelos testes de RIFI e ELISA na detecção de anticorpos anti-*Leishmania* spp. em cães e as variáveis do ambiente, atividade e presença de infecção humana de LTA na residência, em Balneário Camboriú, SC.

VARIÁVEIS	ELISA		X ²	P	RIFI	
	Positivos/Total				Positivos/Total	
Idade (anos)			2,37	0,3046		0,52
< 1	1/3				2/3	
1-4	12/16				10/16	
> 4	4/5				4/5	
Sexo			2,19	0,1389		0,10
Macho	10/17				11/17	
Fêmea	7/7				5/7	
Atividade			0,20	0,6547		0,75
Adejo	8/12				7/12	
Caseiro	9/12				9/12	
Onde Passa a Noite			0,43	0,5080		0,51
Dentro de casa	1/1				1/1	
Fora de Casa	16/23				15/23	
Distancia da Mata			2,61	0,2702		0,51
≤50 m	15/20				13/20	
51-200m	1/3				2/3	
> 200	1/1				1/1	
Presença de Animais			0,89	0,3454		0,89
Roedores	1/2				1/2	
Roedores e Marsupiais	5/6				5/6	
Proprietário			0,60	0,4385		1,00
Com LTA	5/6				5/6	
Sem LTA	12/18				11/18	

Estatisticamente significante: $p < 0,05$

Em residências, localizadas até 50 metros de distância da floresta, verificou-se o maior percentual entre os animais positivos (83,3%). Isto se deve, provavelmente, as características ecológicas do local, onde a vegetação abundante, ainda nativa, e a diversidade de animais sinantrópicos e silvestres estariam propiciando excelentes condições bióticas à presença da fauna flebotomínica que, por sua vez, estaria se

encarregando de disseminar o agente etiológico desta doença. Iversson et al. (1983), em pesquisa de soroprevalência em 389 cães errantes capturados próximos as matas residuais do município de São Paulo, demonstraram pela RIFI que 19,28% eram sororeagentes.

Outra informação considerada importante é o fato de que, neste estudo, apenas cinco cães sorologicamente positivos eram domiciliados junto a caso humano de LTA. Devido à proximidade das residências com a mata nativa, tanto os cães quanto as pessoas poderiam estar se infectando a partir da picada do inseto vetor com formas obtidas em reservatórios vertebrados que poderiam ser, ao menos por enquanto, apenas animais silvestres. Segundo Reithinger e Davies (1999) e Cunha et al. (2006), fatores relacionados à epidemiologia da LTA 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, mantendo a parasitose no peri e intradomicílio.

CONCLUSÕES

1 - A Prevalência de leishmaniose tegumentar canina no município de Balneário Camboriú, Santa Catarina de 8,7%, evidencia a importância destes como possíveis reservatórios.

2 - O número expressivo de animais positivos e assintomáticos é indicativo de uma situação de instalação recente da doença em cães do bairro da Barra, município de Balneário Camboriú.

3.- Não foi observada associação entre positividade e presença de humanos infectados nas residências investigadas.

4 - Há necessidade de mais estudos para avaliar a participação dos cães na cadeia epidemiológica da LTA em Balneário Camboriú.

ANEXOS

ANEXO A – Ficha clínico-epidemiologica

REFERÊNCIAS

AGUILAR, C. M. et al. Zoonotic cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania (V.) braziliensis* associated with domestic animals in Venezuela and Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 84, n. 1, p.19-28, 1989.

ALENCAR, J. E.; PESSOA, E. P.; FONTENELE, Z. F. Infecção natural de *Rattus rattus alexandrinus* por *Leishmania* (provavelmente *L. braziliensis*) em zona endêmica de leishmaniose tegumentar do Estado do Ceará, Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 2, n. 2, p. 347-8, 1960.

AIRES, J. M. et al. Maxadilan (MAX) – Proteína salivar de *Lutzomyia longipalpis*: detecção de anticorpos antiMAX em leishmaniose tegumentar americana (LTA) e expressão gênica e protéica de MAX em *Lutzomyia neivai*. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 80, supl. 3, p. 333-8, 2005.

AZEREDO-COUTINHO, R. B. et al. First report of diffuse cutaneous leishmaniasis and *Leishmania amazonensis* infection in Rio de Janeiro State, Brazil. **Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, 2007. (in press).

BARBOSA, G. M. S. et al. Aspectos epidemiológicos da Leishmaniose Tegumentar Americana em cães, no município de Paraty, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 3, p. 641-6, 1999.

BARBOSA, G. M. S. **Aspectos epidemiológicos da Leishmaniose Tegumentar Americana em cães, no município de Paraty, Estado do Rio de Janeiro, Brasil**. 1997. 48 f. Dissertação (Mestrado em Parasitologia Veterinária) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1997.

BARRAL A. et al. Leishmaniasis in Bahia, Brazil: evidence that *Leishmania amazonensis* produces a wide spectrum of clinical disease. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 44, n. 5, p. 536-46, 1991.

BELLI, A. et al. Simplified polymerase chain reaction detection of new world *Leishmania* in clinical specimens of cutaneous leishmaniasis. **The American Journal of Medical and Hygiene**, Baltimore, v. 58, n. 1, p. 102-9, 1998.

BRANDÃO FILHO, S. P. et al. Wild and synanthropic hosts of *Leishmania (Viannia) braziliensis* in the endemic cutaneous leishmaniasis locality of Amaraji, Pernambuco State, Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and**

Hygiene, London, v. 97, n. 3, p. 291-6, 2003.

CARDOSO, S. R. A. et al. Leishmaniose tegumentar canina no município de Uberlândia, Minas Gerais: Diagnóstico clínico e sorológico de cães naturalmente infectados. **Revista do Centro de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia**, Uberlândia, v. 5, n. 1, p. 14-21, 1989.

CASANOVA, C.; COSTA, A. I. P.; NATAL, D. Dispersal pattern of the sandfly *Lutzomyia neivai* (Diptera: Psychodidae) in a cutaneous leishmaniasis endemic rural area in Southeastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 100, n. 7, p. 719-24, 2005.

COSTA, J. M. et al. Estado atual da leishmaniose cutânea difusa (LCD) no Estado do Maranhão. Aspectos epidemiológicos, clínico-evolutivos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 25, n. 2, p. 115-23, 1992.

CRUZ, A. M. da; COUTINHO, R. B. de A. Leishmaniose Tegumentar Americana. In: BATISTA, R. S. et al. **Medicina Tropical: abordagem atual das doenças infecciosas e parasitárias**. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2001. 320p., p. 131-140.

CUNHA, J. C. de L.; LIMA, J. W. de O.; POMPEU, M. M. de L. Transmissão domiciliar de leishmaniose tegumentar e associação entre leishmaniose humana e canina, durante uma epidemia na Serra de Baturité, no estado de Ceará, Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, São Paulo, v. 9, n. 4, p. 425-35, 2006.

CUPOLILLO, E.; GRIMALDI JR. G.; MOMEN, H. A general classification of new world *Leishmania* using numerical zymotaxonomy. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v.50, n.4, p.296, 1994.

DEDET, J. P. *Leishmania* et leishmanioses du continent américain. **Annales Inst. Pasteur/actual.**, Paris, v. 4, n. 1, p. 3-25, 1993.

DIAS, M. et al. Epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar Americana: estudo de reservatórios em área endêmica no Estado de Minas Gerais. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 19, n. 3, p. 403-10, 1977.

DIAS-LIMA, A. et al. Vertical stratification of phlebotomine sandfly fauna (Diptera, Psychodidae) in a primary non-flooded forest of the Central Amazon, Amazonas State, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 18, n.3, p. 823-32, 2002.

DIETZE, R. Leishmaniose Tegumentar Americana. In: CIMERMAN, S.; CIMERMAN, B. **Medicina Tropical**. São Paulo: Atheneu, 2003. 690 p., p. 85-98.

DORVAL, M. E. M. C. et al. Ocorrência de leishmaniose tegumentar americana no Estado do Mato Grosso do Sul associada à infecção por *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 39, n. 1, p. 43-6, 2006.

- EGER-MANGRICH, I. et al. Expansão do foco de Leishmaniose Tegumentar Americana no estado de Santa Catarina. **Revista de Patologia Tropical**, Goiás, v. 34, suplemento especial, 2005.
- FALQUETO, A. et al. Participation of the dog in the cycle of transmission of cutaneous leishmaniasis in the municipality of Viana, State of Espírito Santo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 81, n. 2, p. 155-63, 1986.
- FALQUETO, A.; SESSA, P. A. Leishmaniose Tegumentar Americana. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Tratado de Infectologia**. 2ª ed. São Paulo: Atheneu, 2002. v. 2, 1856 p., p. 1241-53.
- FORATTINI, O. P. et al. Infecções naturais de mamíferos silvestres em área endêmica de leishmaniose tegumentar do Estado de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 6, n. 3, p. 255-61, set., 1972.
- FORATTINI, O. P. et al. Nota sobre infecção natural de *Oryzomys capito laticeps* em foco enzoótico de leishmaniose tegumentar no Estado de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 7, n. 2, p. 181-4, jun., 1973.
- FORATTINI, O. P. **Entomologia Médica**. 4ª ed. São Paulo: Edgard Blücher Ltda, 1973. 300 p. Cap. 4: Subfamília Phlebotominae – Biologia, p.120-97.
- FERNANDES, N. C. et al. Leishmaniose tegumentar americana: casuística hospitalar no Rio de Janeiro. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 79, n. 4, p. 431-39, 2004.
- FUNASA, Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Manual de controle da Leishmaniose Tegumentar Americana**, 2000. 65 p.
- GENARO, O. Leishmaniose Tegumentar Americana. In: NEVES, D. P. et al. **Parasitologia humana**. 10ª ed. São Paulo: Atheneu, 2000. 464 p. Cap. 8, p. 36-53.
- GONTIJO, B.; CARVALHO, M. L. R. de. Leishmaniose Tegumentar Americana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 36, n. 1, p. 71-80, 2003.
- GONTIJO, C. M. F. et al. Epidemiologia molecular tegumentar no município de Araçuaí, Minas Gerais, Brasil. **Sociedad Iberoamericana de Información Científica**. 2005. Disponível em: <<http://www.siiicsalud.com/des043/05623013.htm>> Acesso em: 05 nov. 2005.
- GRIMALDI JR, G.; TESH, R. B.; MCMAHON-PRATT, D. A review of the geographic distribution and epidemiology of leishmaniasis in the new world. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 41, n. 6, p. 687-725, 1989.
- GRISARD, E. C. et al. Characterization of *Leishmania* sp. strains isolated from autochthonous cases of human cutaneous leishmaniasis in Santa Catarina

State, southern Brazil. **Acta Tropica**, Amsterdam, v. 74, n. 1, p. 89-93, 2000.

GUERRA. J. A. de O. et al. Epidemiologia da leishmaniose tegumentar na Comunidade São João, Manaus, Amazonas, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 11, p. 2319-27, nov., 2006.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo 2000. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br/censo>> Acesso em: 12 dez. 2006.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo 2007. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/contagem2007/popmunic2007laoutTCU14112007.pdf>> Acesso em: 5 jul. 2007.

IVERSSON L. B. et al. Inquérito sorológico para pesquisa de leishmaniose visceral em população canina urbana do município de São Paulo, Brasil (1979-1982). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 310-17, 1983.

JESUS, J. R. de et al. Avaliação sorológica de anticorpos para *Leishmania* spp. na população canina em região de foco de leishmaniose tegumentar americana na Lomba do Pinheiro, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. **Parasitologia Latinoamericana**, Santiago, v. 61, n. 3-4, p. 121-5, 2006.

LAINSON, R. Leishmania e leishmaniose, com particular referência à região Amazônica do Brasil. **Revista Paraense de Medicina**, Belém, v. 11, n. 1, p. 29-40. 1997.

LAINSON, R.; RYAN, L.; JEFFREY, J. Infective stages of *Leishmania* in the sandfly vector and some observations on the mechanism of transmission. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.82, n. 3, p. 421-4, 1987.

LIMA FILHO, J. H. C.; STEINDEL, M. Aspectos clínicos e epidemiológicos da leishmaniose cutânea no Estado de Santa Catarina. **Arquivos Catarinenses de Medicina**, Florianópolis, v. 27, n. 4, p. 25-31, 1998.

LONARDONI, M. V. C. et al. Leishmaniose tegumentar americana humana e canina no município de Mariluz, Estado do Paraná, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 12, p. 2713-16, dez., 2006.

LONARDONI, M. V. C. et al. Nota sobre leishmaniose canina no noroeste do Estado do Paraná, sul do Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 27, n. 5, p. 378, 1993.

MACHADO, P. E. **Comparação dos métodos parasitológico, imunológico, e molecular na detecção de *Leishmania* spp. em amostras de pacientes com Leishmaniose Tegumentar no Estado de Santa Catarina**. 2004. 79 f. dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

MADEIRA, M. de F. et al. Mixed infection with *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* and

Leishmania (Leishmania) chagasi in a naturally infected dog from Rio de Janeiro, Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 100, n. 5, p.442-45, 2006.

MADEIRA, M. de F. et al. *Leishmania (Viannia) braziliensis* em cães naturalmente infectados. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 36, n. 5, p. 551-5, 2003.

MADEIRA, M. de F. et al. Leishmaniose canina: avaliação sorológica de 310 cães na região de Itaipu, Rio de Janeiro. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 16, n. 2, p. 568, 2000. Cartas.

MARCO, J. D. et al. Force of infection and evolution of lesions of canine tegumentary leishmaniasis in Northwestern Argentina. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 96, n.5, p. 649-52, 2001.

MARCONDES, C. B. et al. Flebotomíneos num foco de leishmaniose tegumentar na região leste do Estado de Santa Catarina: resultados preliminares (Diptera: Psychodidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 38, n. 4, p. 353-5, 2005.

MARZOCHI, M. C. A. et al. Reação de imunofluorescência indireta e intradermorreação para leishmaniose tegumentar americana em moradores de Jacarepaguá (Rio de Janeiro). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 149-55, 1980.

MARZOCHI, M. C. A.; SANTOS E. G. B. Evaluation of skin test on the canine mucocutaneous leishmaniasis diagnosis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 83, n. 3, p. 391-2, 1988.

MARZOCHI, M. C. A. Leishmanioses no Brasil: as leishmanioses tegumentares. **Jornal Brasileiro de Medicina**, Rio de Janeiro, v. 63, n. 5, p. 82-104, 1992.

MARZOCHI, M. C. A.; MARZOCHI, K. B. F. Tegumentary and visceral leishmaniasis in Brazil – emerging anthroponosis and possibilities for their control. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 10, supl. 2, p. 359-75, 1994.

MARZOCHI, M. C. A.; SCHUBACH, A. de O.; MARZOCHI, K. B. F. Leishmaniose Tegumentar Americana. In: CIMERMAN, B.; CIMERMAN, S. **Parasitologia Humana e Seus Fundamentos Gerais**. 2ª ed. São Paulo: Atheneu, 2002. 370 p., Cap. 9, p. 39-64.

MAYWALD, P. G. et al. Leishmaniose tegumentar canina: inquérito soropidemiológico em áreas rural e urbana no município de Uberlândia, Minas Gerais. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 30, n. 1, p. 25-9, 1993.

MEDEIROS, A. C. R.; RODRIGUES, S. S.; ROSELINO, A. M. F. Comparison of the

specificity of PCR and the histopatological detection of leishmania for diagnosis of American cutaneous leishmaniasis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, São Paulo, v. 35, n. 4, p. 421-4, 2002.

MINISTÉRIO DA SAÚDE/SVS. Sistema de Informação de Agravos de Notificação – Sinan. Disponível em: <<http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/tabnet?sinan/lta/bases/ltabr.def>>. Acesso em: 29 mar. 2007.

MOTAZEDIAN, H. et al. DNA extraction and amplification of *Leishmania* from archived, Giemsa-stained slides, for the diagnosis of cutaneous leishmaniasis by PCR. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, Liverpool, v. 96, n.1, p. 31-4, 2002.

NAME, R. Q. et al. Estudo clínico, epidemiológico e terapêutico de 402 pacientes com Leishmaniose Tegumentar Americana atendidos no Hospital de Brasília, DF, Brasil. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 80, n. 3, p. 249-54, 2005.

NEVES, D. P. **Parasitologia Dinâmica**. São Paulo: Atheneu, 2003. 500 p. Cap. 15: Gênero *Leishmania*, p.79-84.

PASSOS V. M. A. et al. Leishmaniose tegumentar na Região Metropolitana de Belo Horizonte: aspectos clínicos, laboratoriais, terapêuticos e evolutivos (1989-1995). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 34, n. 1, p. 5-12, 2001.

PEDROSO, A. M. Leishmaniose local do cão. **Anuário Paulista de Medicina**, São Paulo, v.1, p. 33-9, 1913.

PIRMEZ, C.; MARZOCHI, M. C. A.; COUTINHO, S. G. Experimental canine mucocutaneous leishmaniasis (*Leishmania braziliensis braziliensis*). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 83, n. 2, p. 143-51, 1988.

PIRMEZ, C. et al. Canine american cutaneous leishmaniasis: a clinical and immunological study in dogs naturally infected with *L. braziliensis*. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 38, n. 1, p. 52-8, 1988.

REITHINGER, R.; DAVIES, C. R. Is the domestic dog (*Canis familiaris*) a reservoir host of American cutaneous leishmaniasis? A critical review of the current evidence. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 61, n. 4, p. 530-41, 1999.

RODRIGUES, V. L. C. C. **Prevalência da Leishmaniose Tegumentar Americana, a partir do Teste de Intradermoreação Específica, em Cães do Município de Ilhabela, Estado de São Paulo, Brasil**. 1999. 76 f. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia) – Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina, São Paulo, 1999.

ROJAS E.; SCORZA J. V. *Leishmania braziliensis*: aislamiento de lesiones por

inoculación de hámsteres con o sin adición de lisado de glândulas salivares de *Lutzomyia youngi*. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 1-5, 1995.

SALGADO, U.; LOUREIRO, A. Incidência de lesões mucosas em doentes de Leishmaniose Tegumentar Americana. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 41, n. 4, p. 251-56, 1966.

SAMPAIO, R. N. R. et al. Estudo comparativo de técnicas de demonstração de amastigotas e isolamento de promastigotas no diagnóstico da Leishmaniose Tegumentar Americana. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 77, n. 5, p. 557-61, 2002.

SANTOS, E. G. B. et al. Epidemiological survey on canine population with the use of immunoleish skin test in endemic areas of human american cutaneous leishmaniasis in the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 40, n. 1, p. 41-8, 1998.

SANTOS, E. G. B. **A leishmaniose tegumentar de animais domésticos. Perspectivas e desafios relacionados ao diagnóstico e ao controle**. 1997. 133 f. Tese (Doutorado em Biologia Parasitária) - Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 1997.

SANTOS, G. P. L. et al. Prevalência da infecção canina em áreas endêmicas de leishmaniose tegumentar americana, do município de Paracambi, Estado do Rio de Janeiro, no período entre 1992 e 1993. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 38, n. 2, p. 161-6, 2005.

SÃO THIAGO, P de T.; GUIDA, U. Leishmaniose tegumentar no oeste do Estado de Santa Catarina, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 23, n. 4, p. 201-3, 1990.

SCHUBACH, T. M. P. et al. American cutaneous leishmaniasis in two cats from Rio de Janeiro, Brazil: first report of natural infection with *Leishmania (Viannia) braziliensis*. **Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 98, n. 3, p. 165-7, 2004.

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE/SC-DIVE - Divisão de Vigilância Epidemiológica. **Levantamento de fauna flebotomínica relacionado ao surto de Leishmaniose Tegumentar Americana em Blumenau**. Florianópolis, 2006.

SERRA, C. M. B. et al. Leishmaniose tegumentar canina em Morada das Águias (Serra da Tiririca), Maricá, Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 6, p. 1877-80, 2003.

SILVEIRA, T. G. V. et al. Investigação sorológica em cães de área endêmica de leishmaniose tegumentar no Estado do Paraná, sul do Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 1, p. 89-93, 1996.

SILVEIRA, T. G. V. et al. An autochthonous case cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania (Leishmania) amazonensis* Lainson & Shaw, 1972, from the north of

Paraná State, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 85, n. 4, p. 475-6, 1990.

THOMÉ, S. M. G. Cuidado com as leishmanioses. Zoonoses em expansão que requerem atenção dos médicos veterinários e profundo senso de responsabilidade para seu controle. **Cães & Gatos**, São Paulo, v. 85, p. 46-50, 1999.

UCHÔA, C. M. A. et al. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose tegumentar americana canina em Maricá, Rio de Janeiro, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 34, n. 6, p. 563-8, 2001.

VALE, E. C. S. do; FURTADO, T. Leishmaniose tegumentar no Brasil: revisão histórica da origem, expansão e etiologia. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 80, n. 4, p. 421-8, 2005.

YOUNG, D. G.; DUNCAN, M. A. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sandflies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). **Memories of American Entomology Institute**, Associated Publishers, Gainesville, Florida, USA, v. 54, p. 1-881, 1994.

WARD, R. D.; LAINSON, R.; SHAW, J. J. Further evidence of role of *Lutzomyia flaviscutellata* (Mangabeira, 1942) as the vector of *Leishmania (Mexicana) amazonensis* in Brazil. **Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 67, n. 4, p. 608-9, 1973.

WHO - World Health Organization. Leishmaniasis. Disponível em: <<http://www.who.int/tdr/diseases/leish/diseaseinfo.htm>> Acesso em: 06 nov. 2005.

ZANZARINI, P. D. et al. Leishmaniose tegumentar americana canina em municípios do norte do Estado do Paraná, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 6, p. 1957-61, 2005.