

Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



Programa de Pós-Graduação *stricto sensu*
Pesquisa Clínica em Doenças Infeciosas

“Avaliação da Ocorrência das Leishmanioses em Cães e Gatos Domésticos, correlacionados aos Casos Humanos Residentes em Área Endêmica do Município do Rio de Janeiro”.

por

Fabiano Borges Figueiredo

Tese apresentada com vistas à obtenção do título de Mestre em Ciências na área de Pesquisa Clínica em Doenças Infeciosas.

Orientadora: Profa. Dra. Tânia Maria Pacheco Schubach
Co-orientador: Prof. Dr. Armando de Oliveira Schubach

Rio de Janeiro, fevereiro de 2006.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



Programa de Pós-Graduação *stricto sensu*
Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas

Esta dissertação, intitulada

“Avaliação da Ocorrência das Leishmanioses em Cães e Gatos Domésticos, correlacionados aos Casos Humanos Residentes em Área Endêmica do Município do Rio de Janeiro”.

apresentada por

Fabiano Borges Figueiredo

foi avaliada pela Banca Examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof.^a Dr.^a Teresa Cristina Bergamo do Bomfim

Prof.^a Dr.^a Maria de Fátima Madeira

Prof. Dr. Mauro Célio de Almeida Marzochi – Presidente

Tese defendida e aprovada em 10 de fevereiro de 2006.

*Dedico este trabalho à minha família:
aos meus pais Hailton e Creuza,
meu irmão Rodrigo e minha namorada Lilian
por todo amor, carinho e apoio.*

Ficha Catalográfica

Figueiredo, Fabiano Borges

Avaliação da ocorrência de leishmaniose tegumentar americana em cães e gatos domésticos, correlacionados aos casos humanos residentes em área endêmica do Município do Rio de Janeiro. Dissertação de Mestrado de Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas – Rio de Janeiro. RJ. Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas – FIOCRUZ - 2006.

Orientador: Dra. Tânia Maria Pacheco Schubach

I. Referência orientador. II. Referência Instituição. Instituto. III. Título

1. Leishmaniose Tegumentar Americana. 2. Animais domésticos. 3. Município do Rio de Janeiro 4. Rio de Janeiro.

Resumo

Foi realizada busca ativa de cães e gatos nos domicílios dos casos índices humanos de leishmaniose tegumentar americana (LTA) e nos domicílios vizinhos mais próximos, localizados na área da Serra do Mendanha, município do Rio de Janeiro. Durante um ano de estudo, foram visitados 62 domicílios, dos quais em 22 havia casos humanos índices de LTA e 40 domicílios vizinhos. Nos 62 domicílios residiam 248 habitantes, dos quais 22 haviam sido atendidos no IPEC – Fiocruz entre os anos de 2002 e 2004 e 12 relataram história anterior de LTA. Em 14 dos 52 cães e em três dos 42 gatos estudados, *Leishmania* sp. foi observada no isolamento e/ou visualizada no esfregaço por aposição. Nesses animais predominaram lesões ulceradas em 11 cães e quatro gatos. Daqueles que houve isolamento da *Leishmania* sp., em nove cães e três gatos os parasitas apresentaram perfis eletroforéticos similares a cepa referência de *Leishmania (Viannia) braziliensis* e em um cão apresentou perfil similar a cepa referência de *Leishmania (Leishmania) chagasi*. Formas amastigotas foram visualizadas nos tecidos através do exame histopatológico em três de 26 cães e dois dos quatro felinos que apresentavam lesões cutâneas. Nos exames micológicos não foram isolados fungos patogênicos e nas análises hematológicas e bioquímicas não foram encontradas alterações pertinentes. Anticorpos IgG anti-*Leishmania* foram observados no soro de 22 de 50 cães pela técnica de imunofluorescência Indireta (IFI). Não foram observados anticorpos anti-FIV e antígenos de FeLV nos felinos com LTA. Através dos resultados obtidos, foi possível concluir que o número de casos de LTA em gatos domésticos encontrados na região estudada foi elevado considerando a raridade da doença. A maior ocorrência de LTA em cães e gatos em área de casos humanos, pode estar relacionada à proximidade dos domicílios ao meio ambiente silvestre. Não foi encontrada correlação entre as residências com casos humanos e animais infectados por *Leishmania (V.) braziliensis*.

Palavras chaves: leishmaniose tegumentar americana; *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *Leishmania (Leishmania) chagasi*; cães; gatos.

Abstract

An active search of dogs and cats was performed in the residences and neighborhoods where human cases of American Cutaneous Leishmaniasis (ACL) were found. The homes were located in Serra do Mendanha, county of Rio de Janeiro. For one year, in 22 out of 62 residences visited there were human cases of ACL and 40 were neighbors. In the 62 places there were 248 inhabitants, 22 of whom were examined at IPEC - Fiocruz from 2002 until 2004 and 12 reported previous history of ACL. In 14 out of 52 dogs and in three out of the 42 cats studied, *Leishmania* sp. was observed in the isolation and/or visualized by imprint. Ulcers predominated in 11 dogs and four cats. From the animals that *Leishmania* sp. was isolated, in nine dogs and three cats the parasites showed electrophoretic profiles similar to the *Leishmania (Viannia) braziliensis* reference strain and in one dog the profile was similar to *Leishmania (Leishmania) chagasi* reference strain. Amastigote forms were visualized in the tissues by means of histopathological exam in three out of 26 dogs and in two out of four cats that showed lesions. Pathogenic fungi were not isolated in the mycological exams and the hematological and biochemical analyses did not reveal notable alterations. Anti-*Leishmania* IgG antibodies were detected in the serum of 22 out of 50 dogs by means of indirect immunofluorescence (IIF). Neither anti-FIV antibodies nor FeLV antigens were detected in the cats with ACL. The results allow us to conclude that the number of ACL cases in domestic cats found in the studied area was high considering the rareness of the disease. The greatest occurrence of ACL in dogs and cats in the human cases area may be related to the proximity among those homes to the wild environment. Correlation among the residences with human cases and animals infected by *L. (V.) braziliensis* was not found.

Key words: american cutaneous leishmaniasis; *Leishmania (Viannia) braziliensis*; *Leishmania (Leishmania) chagasi*; dogs; cats.

Agradecimentos

A Dra. Tânia Schubach pela orientação, incentivo e atenção durante a realização deste trabalho;

Ao Dr. Armando Schubach pela co-orientação e inestimável ajuda;

Aos meus amigos Sandro Pereira, Isabella Dib, Andressa Guimarães, Thais Okamoto, Isabele Barbieri, Luiz Leme e Leandra Faria que foram fundamentais para a realização deste trabalho;

Ao Moacir Vieira Andrade pelo apoio nas visitas domiciliares;

A Dra. Maria de Fátima Madeira e equipe pela colaboração e dedicação nos exames realizados;

A Dra. Eliame Mouta Confort e equipe pela realização dos exames sorológicos;

A Coordenação de pós-graduação, em especial a Dra. Maria José Serpa, e ao secretário Marcelo Eduardo Timóteo pelo apoio e paciência;

Aos professores do curso de pós-graduação que contribuíram com novos conhecimentos;

Aos colegas mestrandos e doutorandos que compartilharam expectativas e ansiedades;

Aos meus colegas do Serviço de Zoonoses, Sírio Tavares e Roseli Lopes, na ajuda com o material de campo;

A CAPES, pela concessão da bolsa de apoio à pesquisa durante dois anos;

Aos funcionários da SEMAG pela colaboração no agendamento do transporte;

A todos aqueles que ajudaram diretamente e indiretamente na realização deste trabalho.

Índice

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	1
2. OBJETIVOS.....	7
2. 1. OBJETIVO GERAL	7
2. 2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	7
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	8
3. 1. ÉTICA E BIOSSEGURANÇA	8
3. 2. ÁREA DO ESTUDO.....	8
3. 3. DESENHO DO ESTUDO.....	9
3. 4. OUTROS ANIMAIS DOMÉSTICOS	10
3. 4. 1. <i>Manejo dos animais e exame clínico</i>	10
3. 5. COLETA DE ESPÉCIMES CLÍNICOS.....	10
3. 5. 1. <i>Coleta de fragmento das lesões cutâneas</i>	10
3. 5. 2. <i>Coleta de sangue</i>	11
3. 6. TÉCNICAS LABORATORIAIS.....	11
3. 6. 1. <i>Cultura para Leishmania sp. e caracterização isoenzimática</i>	11
3. 6. 2. <i>Exame micológico</i>	12
3. 6. 3. <i>Exame histopatológico</i>	12
3. 6. 4. <i>Pesquisa de formas amastigotas em esfregaço por aposição</i>	12
3. 6. 5. <i>Técnicas sorológicas no diagnóstico canino para leishmaniose</i>	13
3. 6. 6. <i>Sorologia para FIV e FeLV</i>	13
4. RESULTADOS.....	14
4. 1. ÁREA, POPULAÇÃO E AMOSTRAS ESTUDADAS	14
4. 2. CARACTERÍSTICAS DOS DOMICÍLIOS	15
4. 3. INQUÉRITO CANINO	17
4. 3. 1. <i>Exame clínico dos cães com leishmanioses</i>	17
4. 3. 2. <i>Alterações cutâneas</i>	17
4. 3. 3. <i>Isolamento de Leishmania sp. em cultura</i>	22
4. 3. 4. <i>Identificação de Leishmania nos isolados caninos</i>	22
4. 3. 5. <i>Exame micológico canino</i>	25
4. 3. 6. <i>Exame histopatológico canino</i>	25
4. 3. 7. <i>Exame parasitológico de esfregaço por aposição</i>	28
4. 3. 8. <i>Exames complementares</i>	28
4. 3. 9. <i>Inquérito sorológico canino</i>	32
4. 4. INQUÉRITO FELINO	34
4. 4. 1. <i>Exame clínico dos felinos com LTA</i>	34
4. 4. 2. <i>Isolamento de Leishmania sp. em cultura</i>	37
4. 4. 3. <i>Identificação de Leishmania sp. nos isolados dos felinos</i>	37
4. 4. 4. <i>Exame micológico felino</i>	40
4. 4. 5. <i>Exame histopatológico felino</i>	40
4. 4. 6. <i>Exame parasitológico de esfregaço por aposição</i>	40
4. 4. 7. <i>Exame sorológico para FIV e FeLV</i>	41
4. 5. OUTROS ANIMAIS DOMÉSTICOS	41
4. 6. HUMANOS.....	42
5. DISCUSSÃO.....	43
6. CONCLUSÕES	47
7. REFERÊNCIAS.....	48
ANEXO I.....	59
ANEXO II.....	60

Índice de Quadros

QUADRO 1. RESULTADOS DO ISOLAMENTO EM CULTURA DA PRIMEIRA COLETA DE FRAGMENTO DE LESÃO CUTÂNEA ULCERADA NOS CANINOS.	22
QUADRO 2. RESULTADO DOS EXAMES HEMATOLÓGICOS GLOBAIS NOS CÃES COM ISOLAMENTO EM CULTURA E/OU DEMONSTRAÇÃO DE FORMAS AMASTIGOTAS DE <i>LEISHMANIA SP.</i>	29
QUADRO 3. RESULTADO DA LEUCOMETRIA ESPECÍFICA NOS CÃES COM ISOLAMENTO EM CULTURA E/OU DEMONSTRAÇÃO DE FORMAS AMASTIGOTAS DE <i>LEISHMANIA SP.</i>	30
QUADRO 4. RESULTADO DOS EXAMES BIOQUÍMICOS NOS CÃES COM ISOLAMENTO EM CULTURA E/OU DEMONSTRAÇÃO DE FORMAS AMASTIGOTAS DE <i>LEISHMANIA SP.</i>	31
QUADRO 5. RESULTADO SOROLÓGICO OBTIDO PELO TESTE DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA (IFI) EM 50 CÃES.....	32
QUADRO 6. COMPARAÇÃO ENTRE IFI E ELISA DOS CÃES COM ISOLAMENTO EM CULTURA E/OU DEMONSTRAÇÃO DE FORMAS AMASTIGOTAS DE <i>LEISHMANIA SP.</i>	33
QUADRO 7. CONCORDÂNCIA ENTRE IFI E ELISA EM CÃES COM ISOLAMENTO EM CULTURA E/OU DEMONSTRAÇÃO DE FORMAS AMASTIGOTAS DE <i>LEISHMANIA SP.</i>	33

Índice de Gráficos

GRÁFICO 1. LOCALIZAÇÃO DAS LESÕES OBSERVADAS EM 14 CÃES COM ISOLAMENTO EM CULTURA E/OU DEMONSTRAÇÃO DE FORMAS AMASTIGOTAS DE <i>LEISHMANIA</i> SP.....	18
GRÁFICO 2. CARACTERÍSTICAS HISTOPATOLÓGICAS DAS LESÕES DE PELE OBSERVADAS EM 13 CÃES COM ISOLAMENTO EM CULTURA E/OU DEMONSTRAÇÃO DE FORMAS AMASTIGOTAS DE <i>LEISHMANIA</i> SP.	26
GRÁFICO 3. CARACTERÍSTICAS HISTOPATOLÓGICAS DAS LESÕES DE PELE OBSERVADAS EM 13 CÃES SEM ISOLAMENTO EM CULTURA E/OU DEMONSTRAÇÃO DE FORMAS AMASTIGOTAS DE <i>LEISHMANIA</i> SP.	27

Índice de Figuras

Figura 1: Foto de um domicílio na localização estudada (Serviço de Zoonoses / IPEC, 2004).....	16
Figura 2: Foto de um domicílio na localização estudada (Serviço de Zoonoses / IPEC, 2004).....	16
Figura 3: Trabalho de campo (Serviço de Zoonoses / IPEC, 2004).	19
Figura 4: Trabalho de campo (Serviço de Zoonoses / IPEC, 2004).	19
Figura 5: Lesão tegumentar na bolsa escrotal de um canino doméstico apresentando bordas elevadas bem delimitadas com fundo granulomatoso (Serviço de Zoonoses / IPEC, 2004).	20
Figura 6: Lesão tegumentar no pavilhão auricular de um canino doméstico apresentando bordas elevadas bem delimitadas com fundo granulomatoso (Serviço de Zoonoses / IPEC, 2004).	20
Figura 7: Lesão tegumentar no dorso de um canino doméstico apresentando bordas não delimitadas (Serviço de Zoonoses / IPEC, 2004).	21
Figura 8: Lesão tegumentar no pavilhão auricular de um canino doméstico apresentando bordas não delimitadas (Serviço de Zoonoses / IPEC, 2004).....	21
Figura 9: Perfil eletroforético obtido com isolamento dos caninos e observado com a enzima glicose fosfo-isomerase GPI (Serviço de Parasitologia / IPEC, 2004).	23
Figura 10: Perfil eletroforético obtido com isolamento dos caninos e observado com a enzima nucleotidase NH (Serviço de Parasitologia / IPEC, 2004).	24
Figura 11: Felino com LTA apresentando lesão cutânea ulcerada com bordas elevadas e fundo granulomatoso em plano nasal (Serviço de Zoonoses / IPEC, 2004).	35
Figura 12: Felino com LTA apresentando edema e obstrução de focas nasais (Serviço de Zoonoses / IPEC, 2004).....	35
Figura 13: Felino com LTA apresentando nódulo nasal e lesão ulcerada na mucosa nasal (Serviço de Zoonoses / IPEC, 2004).	36
Figura 14: Felino com LTA apresentando duas lesões cutâneas ulceradas com bordas elevadas e fundo granulomatoso em plano nasal (Serviço de Zoonoses / IPEC, 2004).....	36
Figura 15: Perfil eletroforético das amostras isoladas dos felinos e cães glicose fosfo-isomerase GPI (Serviço de Parasitologia / IPEC, 2004).	38
Figura 16: Perfil eletroforético das amostras isoladas dos felinos e cães glicose fosfo-isomerase GPI (Serviço de Parasitologia / IPEC, 2004).	39

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

As leishmanioses são zoonoses, que acometem o homem e outras espécies de mamíferos silvestres e domésticos, de forma crônica com diversas manifestações clínicas. São causadas por protozoários do gênero *Leishmania* e a transmissão ocorre através da picada de insetos vetores da sub-família *Phlebotominae* (Deane & Deane, 1962; Marzochi & Marzochi, 1994).

As leishmanioses concentram-se nas regiões tropicais e sub-tropicais do Velho e do Novo Mundo. Neste último podem ser classificadas em: Leishmaniose Visceral Americana (LVA) e Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) (M.S., 2000; 2003).

No Brasil, a LVA era considerada eminentemente rural, mas atualmente vem se expandindo para as áreas urbanas de médio e grande porte como Araçatuba (SP), Corumbá (MS), Rio de Janeiro (RJ) e Belo Horizonte (MG). *Leishmania (Leishmania) chagasi* é o agente etiológico responsável pela doença e *Lutzomyia longipalpis* tem sido incriminado como o principal vetor na sua transmissão. Entretanto recentemente *Lu. cruzi* foi descrita no Estado do Mato Grosso do Sul exercendo esse papel (Genaro *et al.*, 1990; Santa Rosa & Oliveira, 1997; Palatnik-de-Sousa *et al.*, 2001). É importante ressaltar que alguns autores consideram a *L. (L.) chagasi* e a *L. infantum* como sendo a mesma espécie de *Leishmania* (Mauricio *et al.*, 2000).

No ambiente silvestre, os reservatórios são as raposas (*Dusicyon vetulus* e *Cerdocyon thous*) e os marsupiais (*Didelphis albiventris*), já na área urbana o cão doméstico (*Canis familiaris*) tem-se apresentado como principal fonte de infecção para o flebótomo. A enzootia canina tem precedido a ocorrência de casos humanos e a infecção destes tem sido mais prevalente que nos humanos (Deane & Deane, 1955; Marzochi & Marzochi, 1994; Galimberti *et al.*, 1999; Cabrera *et al.*, 2003).

Os humanos infectados por *L. (L.) chagasi* podem apresentar-se assintomáticos ou com sintomas leves a severos, cujas manifestações mais frequentes são: febre, anemia, hepatomegalia e esplenomegalia levando a um quadro progressivo grave (Marzochi & Marzochi, 1994).

No cão, a doença é de evolução lenta e de início insidioso. Classicamente a Leishmaniose Visceral Canina (LVC) apresenta alterações cutâneas, principalmente descamação e eczema, em particular no espelho nasal e orelha, pequenas úlceras rasas,

localizadas mais freqüentemente nas orelhas, focinho, cauda e articulações. Nas fases mais adiantadas da doença, observa-se, com grande freqüência, onicogribose, esplenomegalia, linfadenopatia, alopecia, dermatites, úlceras de pele, ceratoconjuntivite, coriza, apatia, diarréia, hemorragia intestinal, edema de patas e vômito, além da hiperqueratose. Na fase final da infecção, geralmente ocorre paresia dos membros posteriores, caquexia, inanição e morte. Entretanto, cães infectados podem permanecer sem sinais clínicos por um longo período de tempo (Passos *et al.*, 1993; M.S, 2003; Almeida *et al.*, 2005).

A LTA, também conhecida como Leishmaniose mucocutânea ou úlcera de Bauru, constitui um grave problema de saúde pública, podendo ocasionar deformidades destrutivas, desfigurantes e por vezes incapacitantes, com grande repercussão no campo psicossocial do indivíduo. No Brasil, apresenta ampla distribuição geográfica, sendo que o número de casos vem progressivamente aumentando, chegando a uma média anual de 35 mil indivíduos infectados nos últimos 20 anos (Gontijo & de Carvalho, 2003).

A LTA humana apresenta uma variedade de manifestações clínicas, desde formas cutâneas localizadas com lesões únicas ou múltiplas, forma cutânea difusa e a forma mucosa, que pode deixar seqüelas graves (Marzochi & Marzochi, 1994).

A epidemiologia da LTA no Brasil segue dois padrões: um silvestre relacionado a surtos epidêmicos atingindo principalmente militares em incursões a matas, trabalhadores que atuam na derrubada destas para construções de estradas e exploradores de recursos florestais, tipicamente relacionando-se a populações adultas do sexo masculino (Sampaio, 1951; Basano & Camargo, 2004) e outro urbano encontrado em áreas de colonização antiga com maior freqüência nas regiões Sudeste e Nordeste do país, relacionado ao processo migratório com ocupação de áreas rurais e periferias urbanas (Marzochi & Marzochi, 1994; Serra *et al.*, 2003) e de áreas urbanas adjacentes a ambientes rurais (Oliveira *et al.*, 2004).

O primeiro padrão pode estar relacionado a diferentes espécies de protozoários e vetores, dependendo do ambiente e da região que se encontra. *Leishmania (Leishmania) amazonensis* distribui-se pelas florestas primárias e secundárias da Amazônia (Amazônia, Pará, Rondônia, Tocantins e sudeste do Maranhão), Nordeste (Bahia), Sudeste (Minas Gerais e São Paulo) e Centro-Oeste (Goiás). Seu principal hospedeiro

vertebrado é o rato-soiá (*Proechymis*) e as espécies vetores são *Lu. flaviscutellata*, *Lu. reducta* e *Lu. olmeca nociva* (M.S., 2000).

Leishmania (Viannia) guyanensis é encontrada ao norte da bacia Amazônica (Amapá, Roraima, Amazonas e Pará) e está freqüentemente relacionada a florestas de terra firme. Vários mamíferos silvestres foram identificados como hospedeiros vertebrados naturais, tais como a preguiça (*Choloepus didactylus*), tamanduá (*Tamandua tetradactyla*), marsupiais e roedores. As espécies vetores são *Lu. anduzei*, *Lu. whitmani* e *Lu. umbratilis* (ibidem).

Leishmania (Viannia) braziliensis se destaca por apresentar os dois padrões, o silvestre, com distribuição do sul do Pará ao Nordeste e em algumas áreas da Amazônia oriental, no qual os hospedeiros naturais são desconhecidos e seu vetor é *Psychodopigus wellcomei* (M.S., 2000) e o urbano que com um perfil de transmissão no intra e no peridomicílio, condicionado à adaptação de algumas espécies de flebotomíneos ao meio ambiente modificado da periferia das cidades, atingido também mulheres e crianças (D'Utra e Silva, 1915; Cerqueira, 1922; Passos *et al.*, 1993; Marzochi & Marzochi, 1994). Neste contexto é importante ressaltar a presença de hospedeiros domésticos como cães e eqüinos, criando a possibilidade, ainda não comprovada, desses animais atuarem como reservatórios (Marzochi & Marzochi, 1994; Ferreira *et al.*, 2003).

Dentre os animais domésticos que podem estar envolvidos no ciclo de transmissão da LTA, o cão apresenta maior relevância, já que freqüentemente altas taxas de infecção nesses animais são associadas à doença humana, sinalizando com isso um possível envolvimento (Lopes *et al.*, 1984; Falqueto *et al.*, 2003; Reithinger *et al.*, 2003).

No Brasil, os primeiros relatos de cães naturalmente infectados por *Leishmania* dermatrópica foram descritos no início do século passado (Pedroso, 1913; Aragão, 1922; Fonseca, 1928). No entanto, somente a partir das três últimas décadas é que a participação desses animais na epidemiologia dessa protozoose começou a ser mais estudada.

Falqueto *et al.* (1986) estudaram 186 cães em uma região endêmica no Espírito Santo sendo que 46 (24,7%) deles apresentavam lesões sugestivas e 31 (16,7%) estavam comprovadamente parasitados. Silveira *et al.*, (1996a) no Noroeste do Estado do Paraná, investigaram 132 cães, dos quais 24 (18,2%) apresentaram títulos significativos de anticorpos anti-*Leishmania* detectados através da técnica de Imunofluorescência Indireta (IFI), concluindo que o elevado número de cães soropositivos explica, em parte, a alta endemicidade da doença nesta região.

No município de Paraty, Rio de Janeiro, Barbosa *et al.* (1999), um ano após a notificação de 169 casos humanos, examinaram 215 cães dos quais sete (3,2%) indicaram soro-positividade pela técnica de IFI e 22 (10,2%) pela técnica de ensaios imunoenzimáticos (ELISA).

Follador *et al.* (1999) em Canoa, Bahia, examinaram 555 habitantes e 100 cães, registrando-se respectivamente 29 (5,2%) casos humanos e oito (8%) animais que apresentavam sorologia positiva para leishmaniose. Gontijo *et al.* (2002) estudando durante dois anos uma região de Minas Gerais, encontraram 20,3% (n=148) de positividade entre cães examinados pelo método de IFI e 4,7% pelo isolamento em cultura. A presença de casos humanos (cerca de 24% de 299 moradores pesquisados) e a caracterização da mesma espécie de *Leishmania* entre esses pacientes e os caninos, reforçam a importância desses animais na manutenção do parasita nesta área.

A leishmaniose tegumentar canina (LTC) é caracterizada pela presença de lesões cutâneas ulceradas ou ulcero-vegetantes, freqüentemente recobertas por crostas; únicas, múltiplas ou confluentes, predominando nas extremidades, em áreas desprovidas de pêlos e no focinho, envolvendo a mucosa respiratória. A evolução é prolongada, não costuma comprometer o estado geral do animal e pode apresentar comportamento cíclico, ora com períodos de cicatrização ora com exacerbação da lesão, particularmente nos meses mais quentes e mais frios, e ainda pode cursar-se de forma subclínica (Dias *et al.*, 1977; Araújo Filho *et al.*, 1978; Pirmez *et al.*, 1988a; Marzochi, 1992; Santos *et al.*, 1998; Barbosa *et al.*, 1999; Madeira *et al.*, 2003; Serra *et al.*, 2003).

Em relação aos eqüinos um inquérito realizado em 77 animais comprovou soropositividade em 17 (22%), embora a doença não seja freqüente nessa espécie animal (Aguilar *et al.*, 1987; Yoshida *et al.*, 1990; Falqueto *et al.*, 1991). A LTA suína é rara (Brazil *et al.*, 1987).

A infecção do gato doméstico (*Felis catus*) por *Leishmania* sp. também é considerada rara, mas nas áreas onde a ocorrência de outras espécies infectadas é elevada, a freqüência desse achado pode ser maior do que o esperado (Bonfante-Garrido *et al.*, 1991).

O primeiro caso de leishmaniose felina foi descrito por Mazza, em 1927, citado por Bonfante-Garrido *et al.* (1991). Desde então, outros autores vêm notificando a presença da doença, tanto na forma cutânea quanto na forma visceral, em diversas partes do mundo. Machattie *et al.* (1931) relataram a ocorrência de *L. tropica* em dois gatos no Iraque. Barnes *et al.* (1993) através de estudos morfológicos e de técnicas de isoenzimas caracterizaram *L. mexicana* nos Estados Unidos. Costa-Durão *et al.* (1994) relataram *Leishmania* sp. em Portugal. Ozon *et al.* (1998) descreveram que o mesmo zimodema de *L. infantum*, responsável pela maioria das infecções humanas e caninas, foi encontrado em um felino na França. E na Itália, Poli *et al.* (2002) diagnosticaram *L. infantum* em um gato doméstico.

No Brasil, o primeiro relato ocorreu em 1939, quando Mello (1940) observou a infecção natural em um gato no Pará. Posteriormente, em Minas Gerais, Passos *et al.* (1996) identificaram por reação em cadeia da polimerase (PCR) *L. (Viannia)* como o causador da doença em um felino. Schubach *et al.* (2004) no Rio de Janeiro, diagnosticaram através do isolamento em cultura, pela primeira vez, dois casos autóctones de leishmaniose felina causada por *L. (V.) braziliensis*. Savani *et al.* (2004), pela técnica de PCR, relataram infecção de um felino por *L. (Leishmania) infantum chagasi* em São Paulo e sugeriram que o gato poderia fazer parte do ciclo de transmissão como reservatório da leishmaniose em áreas endêmicas.

Clinicamente as leishmanioses felinas se manifestam diferentemente de acordo com o parasita envolvido. Na leishmaniose visceral os sinais clínicos mais freqüentes são: febre baixa, perda de peso, icterícia, vômitos, alopecia recorrente no abdômen e cabeça, descamação difusa bilateral, ulcerações junto a saliências ósseas, bordas das orelhas edemaciadas, aumento de linfonodos poplíteos e úlcera córnea bilateral (Hervas

et al., 1999; Leiva *et al.*, 2005). Na leishmaniose cutânea os sinais mais comumente relatados são: áreas de alopecias arredondadas, nódulos e lesões ulceradas em nariz e orelhas, lesões vegetantes em região interdigital e região plantar (Mello, 1940; Barnes *et al.*, 1993; Costa -Durão, 1994; Passos *et al.*, 1996; Schubach *et al.*, 2004; de Souza *et al.*, 2005).

O diagnóstico para detecção da infecção em gatos por *Leishmania* sp. baseia-se no aspecto clínico das lesões cutâneas e mucosas, evidências epidemiológicas, demonstração do parasito nas lesões e na detecção de anticorpos específicos, através de testes sorológicos como IFI e ELISA (Madeira *et al.*, 2005a), sendo esses considerados de melhor especificidade e maior sensibilidade, respectivamente (Barbosa *et al.*, 1999).

O diagnóstico diferencial da LTA felina deve ser estabelecido com algumas doenças infecciosas como a esporotricose e a criptococose, e neoplasias (Pereira & Coutinho, 2003; Schubach *et al.*, 2004; de Souza *et al.*, 2005).

Alguns autores sugerem que doenças imunossupressoras podem influenciar na evolução da leishmaniose, tais como: neoplasias, leucemia felina (FeLV) e a síndrome da imunodeficiência felina (FIV) (Pennisi *et al.*, 1998; Hervas *et al.*, 2001; Poli *et al.*, 2002; Leiva *et al.*, 2005). Sendo a última de grande importância entre os felinos devido a sua forma de contágio (inoculação do vírus presente na saliva ou sangue, através de mordidas e arranhões) e sua patogenicidade (desequilíbrio na relação CD4/CD8 causado pela replicação viral). Nestes casos pode ocorrer também a desorganização nas concentrações celulares, além de prejuízo na produção de citocinas e alterações nas expressões de moléculas de superfície como Complexo de Histocompatibilidade Principal, favorecendo a instalação de outras enfermidades (Ishida *et al.*, 1992; Thomas & Robinson, 1995.; Levine *et al.*, 2001).

Devido a constante presença de animais domésticos infectados por *L. (V.) braziliensis* concomitantes às infecções humanas, associada à falta do conhecimento da susceptibilidade, dos aspectos clínicos e até mesmo do papel destes como mantenedores do parasita no meio ambiente, tornam-se importantes as pesquisas a esse respeito, para uma melhor elucidação desses aspectos, principalmente em áreas como a Serra do Mendanha, região de Campo Grande, bairro localizado na zona oeste do município do Rio de Janeiro, onde a ocorrência de um elevado número de casos humanos associa-se ao achado de cães e gatos infectados por essa doença (C.R.Leish., 2002; S.M.S., 2005b).

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Verificar a ocorrência de leishmaniose em cães e gatos domésticos domiciliados e semidomiciliados nos arredores e moradias de casos índices humanos com leishmaniose tegumentar americana, residentes na área da Serra do Mendanha, Município do Rio de Janeiro, e atendidos no ambulatório do Centro de Referência em Leishmanioses - IPEC entre os anos de 2002 e 2004.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Verificar a ocorrência de casos de leishmaniose felina, canina, eqüina e suína na área do estudo;
2. Verificar outros possíveis diagnósticos diferenciais nesses animais;
3. Identificar as espécies de *Leishmania* eventualmente isoladas;
4. Avaliar os sinais clínicos entre os animais positivos para leishmaniose;
5. Comparar as técnicas de IFI e EISA dos cães e com isolamento em cultura e/ou demonstração de formas amastigotas de *Leishmania* sp.;
6. Analisar resultados hematológicos e bioquímicos dos animais doentes;
7. Verificar a presença de co-infecção por FIV e/ou FeLV em eventuais casos de leishmaniose felina;
8. Correlacionar a LTA canina e felina com a LTA humana na área do estudo.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3. 1. ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

Em todas as atividades foram seguidas as normas de biossegurança (Borges, 1998). O protocolo de procedimentos realizados nos animais foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA - FIOCRUZ), registrado sob número P. 0221-04.

3. 2. ÁREA DO ESTUDO

Foi estudada uma área na zona oeste do município do Rio de Janeiro, bairro de Campo Grande, na qual se localiza o maciço do Gericinó-Mendanha situado entre os paralelos 22° 45' e 22° 50 de latitude sul e os meridianos 43° 25' e 43° 40' de longitude oeste de Greenwich (Silva-Costa, 1998).

O maciço do Gericinó-Mendanha, no qual foi criado o Parque Ecológico do Mendanha, apresenta 60% da sua área coberta por floresta de mata Atlântica primária e no restante predomina a mata secundária em diferentes graus de regeneração. Nesta região o clima é o tropical de altitude superúmido com temperaturas pouco mais baixas que as do vale (região do bairro de Bangu e bairros adjacentes, estas variando em torno de 11°C acima do restante do município) e índices pluviométricos mais elevados, pois está voltada para os ventos úmidos do mar e protegida pela vegetação (ibidem).

A partir da década de 60, a área vem sofrendo transformações rápidas e intensas, devido à ocupação urbana descontrolada, favelização e à expansão das atividades agrícolas (bananais e coqueirais), que ocupam as partes mais baixas e as encostas, substituindo a cobertura vegetal primária (ibidem).

3. 3. DESENHO DO ESTUDO

A atuação do Serviço de Zoonoses, no contexto do Centro de Referência em Leishmanioses, foi integrada à Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro e aos Serviços de Anatomia Patológica, Patologia Clínica, Micologia e Parasitologia do IPEC–Fiocruz.

Foi realizada busca ativa de cães e gatos domiciliados e semidomiciliados nas moradias dos casos índices humanos de LTA, diagnosticados no ambulatório do Centro de Referência em Leishmanioses - IPEC entre 2002 e 2004, e residentes na área da Serra do Mendanha, município do Rio de Janeiro. A busca estendeu-se aos domicílios vizinhos mais próximos.

As visitas foram agendadas por contato telefônico. Na primeira visita, os responsáveis foram esclarecidos sobre o estudo desenvolvido e informados sobre a doença, formas de transmissão e de prevenção. Após os esclarecimentos necessários, o termo de consentimento (Anexo I), autorizando a utilização dos dados e materiais coletados dos animais, era assinado, a anamnese registrada nos prontuários de acordo com um questionário previamente elaborado (Anexo II). As caixas de acondicionamento para transporte de felinos eram deixadas neste primeiro momento para que os animais fossem recolhidos no dia anterior à segunda visita, na qual a consulta era realizada.

Eqüídeos e suínos presentes nos domicílios também foram examinados quanto à presença de lesões sugestivas de LTA.

As informações coletadas no estudo foram armazenadas em bancos de dados específicos, utilizando o programa Access. Os bancos de dados foram divididos em quatro grupos: domicílios, felinos, caninos com lesões e caninos com exame parasitológico positivo. As análises foram realizadas nos programas Microsoft SPSS-11 e Excel.

3. 4. OUTROS ANIMAIS DOMÉSTICOS

3. 4. 1. MANEJO DOS ANIMAIS E EXAME CLÍNICO

Os felinos foram sedados com cloridrato de ketamina (10 mg/kg) associada a acepromazina (0,2 mg/kg) por via intra-muscular. Os cães foram amordaçados e contidos mecanicamente. Quando necessário, os cães foram sedados da mesma forma que os felinos. Após a sedação ou contenção, os animais foram colocados sobre uma mesa de aço inoxidável. Após estes procedimentos, os animais foram submetidos ao exame clínico e dermatológico, no qual foi especialmente observada a presença de lesões cutâneas e mucosas, especificando o número, localização e características.

3. 5. COLETA DE ESPÉCIMES CLÍNICOS

3. 5. 1. COLETA DE FRAGMENTO DAS LESÕES CUTÂNEAS

As lesões cutâneas, quando presentes, foram fotografadas e em seguida foi realizada tricotomia ao redor da lesão, limpeza com água e sabão, anti-sepsia com álcool a 70%, anestesia local com lidocaína 2% e biópsia em dois pontos da borda da lesão com *punch* de 3mm. Cada fragmento foi dividido em 2 partes: a primeira das quatro amostras foi acondicionada em solução salina estéril, a segunda em salina estéril contendo 1000UI de penicilina G potássica (SIGMA), 100µg de estreptomicina (SIGMA) e 50µg de 5-fluorocitosina (SIGMA) (respectivamente, para exame micológico e isolamento de *Leishmania* sp.); a terceira foi fixada em formalina tamponada a 10% (para exame histopatológico) e com a última procedeu-se esfregaço por aposição em lâmina de vidro (para pesquisa direta de formas amastigotas).

3. 5. 2. COLETA DE SANGUE

Realizou-se tricotomia com lâmina de aço inoxidável descartável e anti-sepsia com álcool 70% no local da venopunção. Nos cães de grande porte utilizou-se a veia cefálica. Em felinos e cães de médio e pequeno porte foi puncionada a veia jugular. Foi coletado 10ml de sangue em tubos vacutainer com e sem EDTA para realização de hemograma completo, bioquímica sérica (uréia, creatinina, albumina e globulina) e testes sorológicos para leishmaniose canina. Especificamente para os felinos foi realizada sorologia para FIV e FeLV e amostras de soro foram armazenadas para uma posterior padronização das técnicas sorológicas para o diagnóstico das leishmanioses felinas.

3. 6. TÉCNICAS LABORATORIAIS

3. 6. 1. CULTURA PARA *LEISHMANIA* SP. E CARACTERIZAÇÃO ISOENZIMÁTICA

As amostras teciduais coletadas foram mantidas em solução salina, a temperatura de 4°C durante 24 horas e após esse período, foram seccionadas e semeadas separadamente em meio bifásico NNN (Novy, MacNeal e Nicolle)/Schneider's Insect Medium (SIGMA) contendo 10% de soro fetal bovino. O cultivo foi incubado a 28°C durante um mês. A partir do 5º dia foi observada a possível presença de formas promastigotas de *Leishmania* sp. (Chang & Hendricks, 1985). Os isolados foram criopreservados para posterior identificação por isoenzimas (Cupolillo *et al.*, 1994).

Os isolados obtidos durante o estudo foram caracterizados pela eletroforese de enzimas (isoenzimas) empregando cinco sistemas enzimáticos: glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH; E.C.1.1.1.49); glicose fosfo-isomerase (GPI; E.C.5.3.1.9); nucleotidase 1 e 2 (NH1 e NH2; E.C.3.2.2.1) e fosfo-glico desidrogenase (6PGDH; E.C.1.1.1.43). Todos os procedimentos foram baseados nos protocolos descritos por Cupolillo *et al.*, (1994), sendo cada isolado comparado com o padrão eletroforético de três amostras de referência. (*Leishmania (Viannia) braziliensis* - MHOM/BR/75/M2903, *Leishmania (Leishmania) chagasi* - MHOM/BR/74/PP75 e *Leishmania (Leishmania) amazonensis* - IFLA/BR/67/PH8).

3. 6. 2. EXAME MICOLÓGICO

As amostras foram submetidas a seguinte rotina de exame micológico no Serviço de Micologia do IPEC: exame microscópico direto com hidróxido de sódio a 4% e semeadura em ágar Sabouraud-dextrose acrescido de cloranfenicol e ágar Mycobiotic (DIFCO), incubado a 25°C e observado durante 4 semanas. Os isolados foram repicados em meio Batata-dextrose-ágar (DIFCO) a 25°C e o dimorfismo foi demonstrado pela conversão à forma para levedura a 37°C em meio ágar infusão de cérebro e coração (BHI) (DIFCO) (Rippon, 1988; Werner & Werner, 1994).

3. 6. 3. EXAME HISTOPATÓLOGICO

As amostras previamente fixadas em formol tamponado 10% foram embebidas em parafina, processadas e coradas pela hematoxilina-eosina (HE), pelo ácido periódico de Schiff (PAS) e pelo método de impregnação pela prata Grocott (Luna, 1968).

3. 6. 4. PESQUISA DE FORMAS AMASTIGOTAS EM ESFREGAÇO POR APOSIÇÃO

Os esfregaços de lesão cutânea foram corados pelo método de Giemsa e observados em microscópio óptico com objetiva de 100x para pesquisa direta de formas amastigotas de *Leishmania* sp..

3. 6. 5. TÉCNICAS SOROLÓGICAS NO DIAGNÓSTICO CANINO PARA LEISHMANIOSE.

A imunofluorescência indireta (IFI) e o ensaio imunoenzimático (ELISA) foram utilizados para a pesquisa de anticorpos IgG anti-*Leishmania* no soro dos cães.

A IFI foi realizada segundo as especificações do fabricante (Biomanguinhos/FIOCRUZ/MS). Considerou-se como soro-reatoras as amostras que apresentaram fluorescência em diluições iguais ou maiores que 1:40.

Para o ELISA utilizou-se antígeno obtido de formas promastigotas de *L. (V.) braziliensis*, previamente fixado em placa de poliestireno de fundo chato com 96 poços. Os soros foram diluídos a 1:20 em duplicata. A determinação de positividade baseou-se em leituras superiores ao *cut-off*.

3. 6. 6. SOROLOGIA PARA FIV E FELV

No soro dos felinos foi realizado ELISA rápido para pesquisa de antígenos do vírus da imunodeficiência felina (FIV) e de anticorpos contra o vírus da leucemia felina (FeLV) (antígeno p27) (SNAP Combo FeLV Ag/ FIVAb, IDEXX, Westbrook, Mass). A técnica foi realizada de acordo com as instruções do fabricante.

4. RESULTADOS

4.1. ÁREA, POPULAÇÃO E AMOSTRAS ESTUDADAS.

Na área do estudo existia um total de 808 casas, nas quais estimou-se habitar 2341 pessoas, 525 cães e 48 felinos (C.C.Z., 2003; S.M.S., 2005a).

Durante um ano de estudo, foram visitados 62 (7,7%; n=808) domicílios, dos quais em 22 (35,5%) havia casos humanos índices de LTA e 40 (64,5%) domicílios eram vizinhos. Nos 62 domicílios residiam 248 (10,6%; n=2341) habitantes, dos quais 12 (4,8%) relatavam história anterior de LTA e 22 (8,9%) haviam sido atendidos no IPEC entre 2002 e 2004.

De acordo com os domicílios visitados, em 10 (16,1%; n=62) foram diagnosticados cães com LTA, em 19 (30,7%) cães negativos e em 33 (53,2%) não havia cães.

Em 14 (26,9%) dos 52 cães estudados, *Leishmania* sp. foi observada no isolamento e/ou visualizada no esfregaço por aposição. Foram examinados 42 felinos, em três (7,2%) foi isolado *Leishmania* sp. em cultura.

Com relação à paridade entre os casos humanos, caninos e felinos no mesmo domicílio observou-se que: em oito (12,9%) domicílios havia casos concomitantes humanos e animais; em 10 (16,1%) somente casos humanos; em três (4,8%) somente animais positivos e em nove (14,5%) não havia casos humanos e animais.

Na amostra estudada, utilizando a correção de Yates com ($p < 0,05$), o grau de infecção humana não dependeu da infecção animal.

4. 2. CARACTERÍSTICAS DOS DOMICÍLIOS

Todos os domicílios avaliados possuíam estrutura em alvenaria. Somente um apresentava proteção de tela contra insetos nas portas e janelas. Trinta e nove (62,9%; n=62) domicílios se localizavam em área rural próxima a mata, 17 (27,4%) em mata fechada, quatro (6,5%) em área periurbana e duas (3,2%) no perímetro urbano (Figuras 1 e 2). Em 18 (29,0%; n=62) domicílios havia construções para criação de animais domésticos (aves, suínos e eqüinos), todas localizadas a menos de 100 metros de distância da moradia.



Figura 1: Foto de um domicílio na localização estudada (Serviço de Zoonoses / IPEC, 2004).



Figura 2: Foto de um domicílio na localização estudada (Serviço de Zoonoses / IPEC, 2004).

4.3. INQUÉRITO CANINO

4.3.1. EXAME CLÍNICO DOS CÃES COM LEISHMANIOSES

Foram examinados 52 cães domésticos, todos sem raça definida (SRD), sendo 55,7% machos (Figuras 3 e 4). Vinte e sete (51,9%) cães apresentavam lesões cutâneas ulceradas sugestivas de LTA. Em 14 (51,9%; n=27) desses foi confirmado a presença do parasita através do isolamento e/ou visualização de formas amastigotas de *Leishmania* sp. no esfregaço por aposição.

Dez cães com leishmaniose se encontravam em bom estado geral, três em estado regular e um em estado geral ruim. Foram observados durante exame clínico adenomegalia localizada (linfonodos retrofaríngeos em dois cães e linfonodos poplíteos em quatro cães) e adenomegalia generalizada em três cães.

Todos os cães estavam infestados com pulgas e carrapatos.

Não foram observadas outras alterações no exame físico. Um cão não pôde ser examinado por apresentar comportamento agressivo.

4.3.2. ALTERAÇÕES CUTÂNEAS

Em 11 (78,6%; n=14) cães com o diagnóstico confirmado de leishmaniose foram observadas lesões cutâneas ulceradas com bordas elevadas, bem delimitadas e com o fundo granulomatoso (Figuras 5 e 6). Em três (21,4%) as bordas não eram bem delimitadas (Figuras 7 e 8). Em sete (50%) havia a presença de crostas recobrimdo a lesão e em dois (14,3%) havia secreção de aspecto purulento.

Quanto ao número de lesões, 10 (71,4%; n=14) cães apresentavam lesão única e quatro (28,6%) apresentavam lesões em duas ou mais localizações.

O tempo de evolução não pode ser definido por falta de informações. A localização das lesões foi detalhada no gráfico abaixo (Gráfico. 1).

Gráfico 1. Localização das lesões observadas em 14 cães com isolamento em cultura e/ou demonstração de formas amastigotas de *Leishmania* sp..

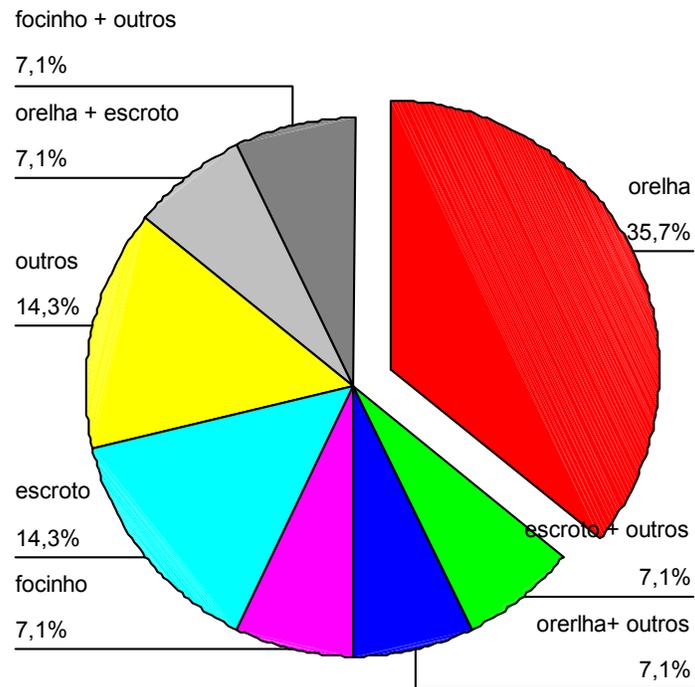




Figura 3: Trabalho de campo (Serviço de Zoonoses / IPEC, 2004).



Figura 4: Trabalho de campo (Serviço de Zoonoses / IPEC, 2004).



Figura 5: Lesão tegumentar na bolsa escrotal de um canino doméstico apresentando bordas elevadas bem delimitadas com fundo granulomatoso (Serviço de Zoonoses / IPEC, 2004).



Figura 6: Lesão tegumentar no pavilhão auricular de um canino doméstico apresentando bordas elevadas bem delimitadas com fundo granulomatoso (Serviço de Zoonoses / IPEC, 2004).



Figura 7: Lesão tegumentar no dorso de um canino doméstico apresentando bordas não delimitadas (Serviço de Zoonoses / IPEC, 2004).



Figura 8: Lesão tegumentar no pavilhão auricular de um canino doméstico apresentando bordas não delimitadas (Serviço de Zoonoses / IPEC, 2004).

4.3.3. ISOLAMENTO DE *LEISHMANIA* SP. EM CULTURA

Dos 27 cães que apresentaram lesões cutâneas ulceradas, pode-se isolar *Leishmania* sp. de 13 deles. Em seis não houve crescimento do parasita e em oito o exame foi prejudicado por contaminação bacteriana e/ou fúngica (Quadro 1). Nos 14 casos com cultura negativa ou contaminada foi realizada uma nova biópsia da borda da úlcera cutânea cuja tentativa de isolamento foi negativa para todos.

Quadro 1. Resultados do isolamento em cultura da primeira coleta de fragmento de lesão cutânea ulcerada nos caninos.

Resultado da cultura	Nº absoluto	Porcentagem
Contaminado	8	29,6
Negativo	6	22,2
Positivo	13	48,1
Total	27	100,0

4.3.4. IDENTIFICAÇÃO DE *LEISHMANIA* NOS ISOLADOS CANINOS

Dos 13 cães em que houve isolamento parasitário, a caracterização foi realizada em 10 casos. Destes, nove apresentaram perfis eletroforéticos similares à cepa referência de *L. (V.) braziliensis* e um caso apresentou perfil eletroforético similar à cepa referência de *L. (L.) chagasi* (Figuras 9 e 10).

Não houve a possibilidade de realizar a caracterização nas amostras de três animais devido ao escasso crescimento dos isolados.

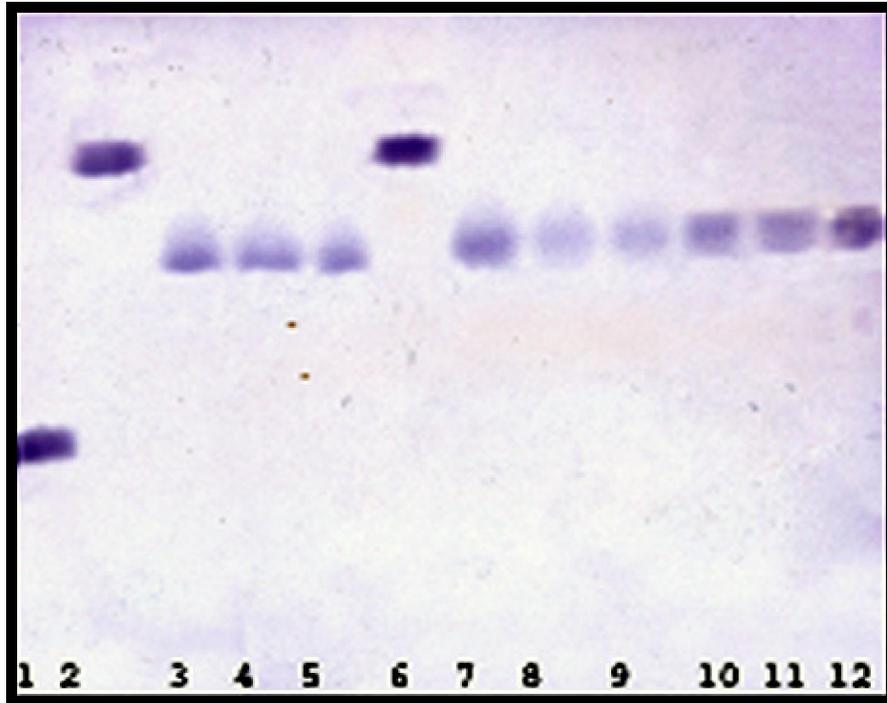


Figura 9: Perfil eletroforético obtido com isolamento dos caninos e observado com a enzima glicose fosfo-isomerase GPI (Serviço de Parasitologia / IPEC, 2004).

1) *L. (L.) amazonensis* (IFLA/BR/67/PH8); 2) *L. (L.) chagasi* (MHOM/BR/74/PP75); 3) *L. (V.) braziliensis* (MHOM/BR/75/M2903); 4) 2816 nariz; 5) 2816 orelha; 6) 2864; 7) 3140; 8) 2814; 9) 2885; 10) 2885; 11) 2993; 12) *L. (V.) braziliensis* (MHOM/BR/75/M2903).

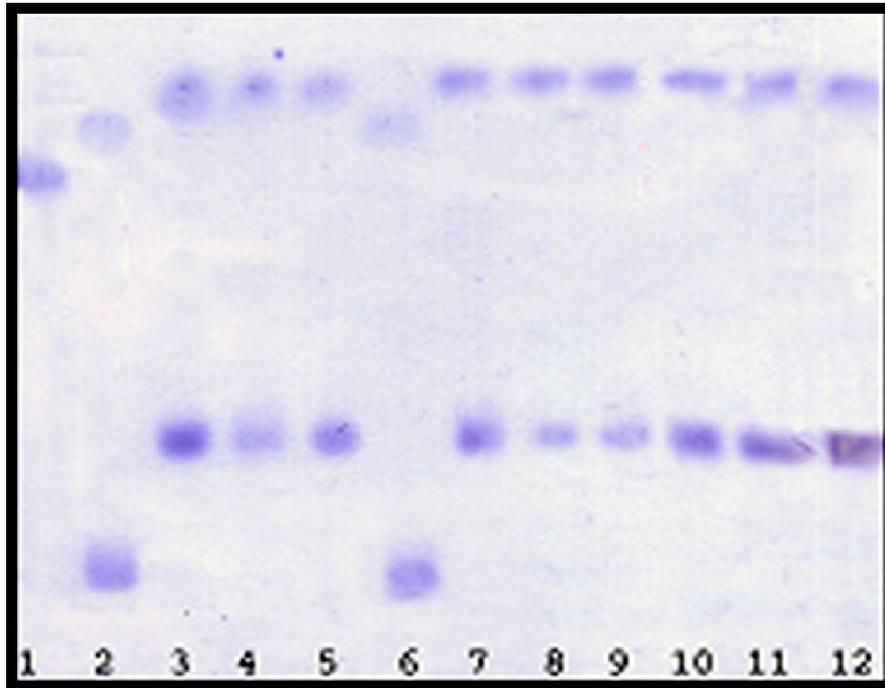


Figura 10: Perfil eletroforético obtido com isolamento dos caninos e observado com a enzima nucleotidase NH (Serviço de Parasitologia / IPEC, 2004).

1) *L. (L.) amazonensis* (IFLA/BR/67/PH8); 2) *L. (L.) chagasi* (MHOM/BR/74/PP75); 3) *L. (V.) braziliensis* (MHOM/BR/75/M2903); 4) 2816 nariz; 5) 2816 orelha; 6) 2864; 7) 3140; 8) 2814; 9) 2885; 10) 2885; 11) 2993; 12) *L. (V.) braziliensis* (MHOM/BR/75/M2903).

4.3.5. EXAME MICOLÓGICO CANINO

Não houve isolamento do *Sporothrix schenckii* nem de outro fungo patogênico em nenhum dos 27 cães com lesões cutâneas.

4.3.6. EXAME HISTOPATOLÓGICO CANINO

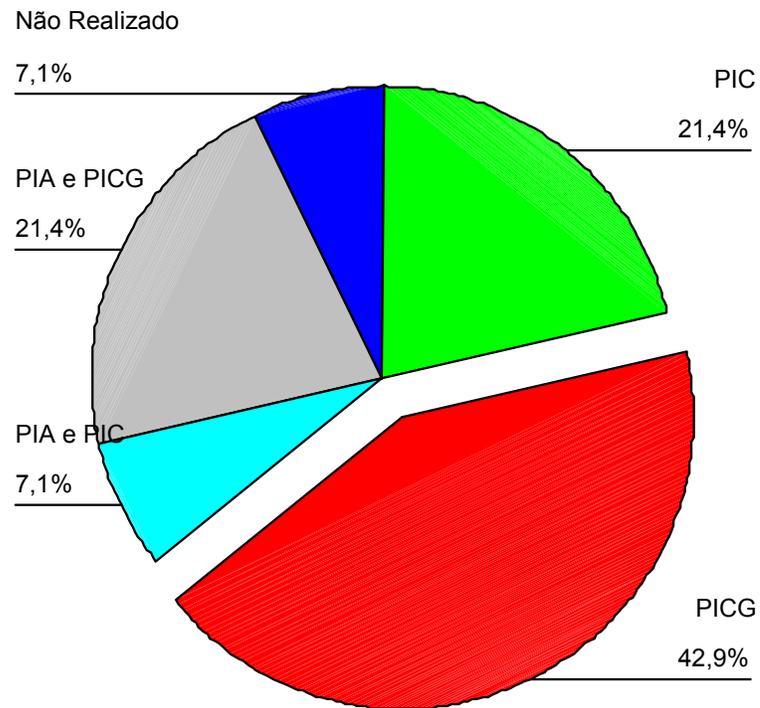
Foram realizados exames histopatológicos em 26 (96,3%; n=27) fragmentos de pele provenientes dos caninos que apresentaram lesões cutâneas. As distribuições de 13 casos confirmados de leishmaniose em relação aos processos inflamatórios estão mostrados nos gráficos abaixo (Gráficos 2 e 3).

Ao exame histopatológico foram observadas formação de processos inflamatórios agudos com presença de células polimorfonucleadas e de processos inflamatórios crônicos e crônicos granulomatosos, com presença de células mononucleadas.

A presença de formas amastigotas nos tecidos foram visualizadas em três (11,5%; n=26) cães.

Nos exames realizados não foram encontradas estruturas fúngicas ou neoplásicas.

Gráfico 2. Características histopatológicas das lesões de pele observadas em 13 cães com isolamento em cultura e/ou demonstração de formas amastigotas de *Leishmania* sp.

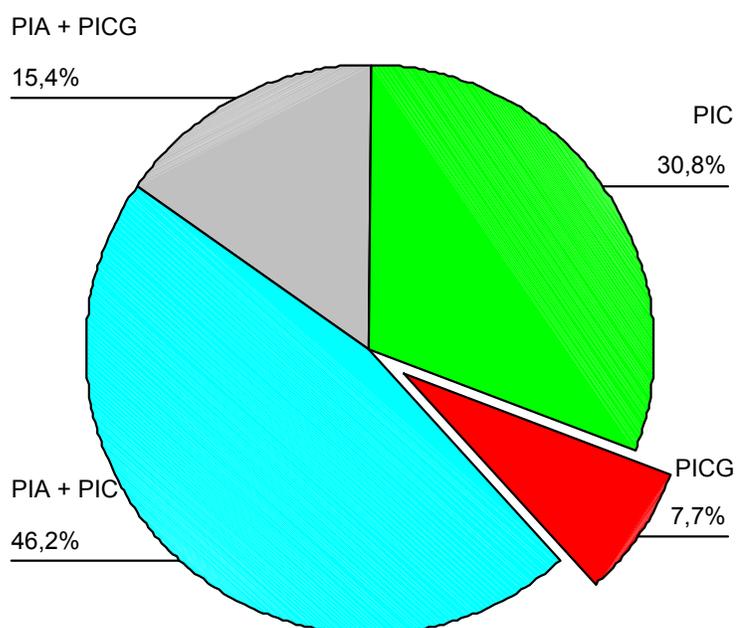


PIA: Processo Infamatório Agudo;

PIC: Processo Inflamatório Crônico;

PICG: Processo Inflamatório Crônico Granulomatoso.

Gráfico 3. Características histopatológicas das lesões de pele observadas em 13 cães sem isolamento em cultura e/ou demonstração de formas amastigotas de *Leishmania* sp.



PIA: Processo Infamatório Agudo;

PIC: Processo Inflamatório Crônico;

PICG: Processo Inflamatório Crônico Granulomatoso.

4.3.7. EXAME PARASITOLÓGICO DE ESFREGAÇÃO POR APOSIÇÃO

No exame direto de esfregaço por aposição realizado nos animais que apresentavam lesões cutâneas foram observadas formas amastigotas em oito (30,8%; n=26) casos.

Não foram observadas estruturas fúngicas ou presença de células que caracterizassem outras infecções.

4.3.8. EXAMES COMPLEMENTARES

Foram analisados os parâmetros hematológicos de 12 cães positivos para leishmaniose, sendo que um apresentou anemia microcítica hipocrômica representada pelas diminuições no hematócrito (12 g%), no número hemácias ($1.700.000 \text{ mm}^3$), na concentração de hemoglobina (3,7 g%), no VGM ($69 \mu^3$), no HGM (22 pg) e alterações nas células brancas com diminuição da leucometria global (6.400 mm^3) (Quadro 2) e leucopenia.

Com relação a leucometria específica sete animais foram analisados, sendo que um animal apresentou eosinofilia com 1197 (9,0%) células e um desvio celular para esquerda com presença de bastonetes e metamielócitos (Quadro 3).

Nos dois casos citados acima os cães eram da mesma residência e estavam em estado geral regular. Foi realizada pesquisa de hematozoários nos esfregaços sanguíneos, onde pode ser diagnosticada a presença de *Babesia* sp. no segundo animal.

Na análise das bioquímicas séricas não houve alterações (Quadro 4).

Quadro 2. Resultado dos exames hematológicos globais nos cães com isolamento em cultura e/ou demonstração de formas amastigotas de *Leishmania* sp.

Prontuários	Hemácia / mm ³	Hemoglobina /g%	Hematócrito / g%	Leucometria Global / mm ³
2814	3.3000.000	7,5	23	13.500
1815	4.300.000	10,2	31	19.200
2816	6.300.000	15	44	30.100
2864	3.800.000	9,5	28	10.900
2869	5.300.000	12,4	37	12.500
2870	5.700.000	12,9	39	20.800
2885	4.200.00	9,8	29	10.300
2898	4.600.00	11,4	34	16.500
2991	5.800.000	13,1	40	8.000
2992	1.700.000	3,7	12	6.400
2993	4.900.000	9,6	30	13.300
3049	--	--	--	--
3140	4.200.000	10,4	30	8.600
3372	--	--	--	--

Valores normais:

Hemácia: 5,5 – 8,5 /mm³

Hemoglobina: 12 - 18 /g%

Hematócrito: 37 -55 / g%

Leucometria: 6.000.000 – 17.000.000 Global / mm³

Fonte: Jain (1993)

Quadro 3. Resultado da leucometria específica nos cães com isolamento em cultura e/ou demonstração de formas amastigotas de *Leishmania* sp.

Prontuários	Bas N°	Eos N°	Mie N°	Met N°	Bast N°	Seg N°	Lin N°	Mon N°
2814	0	405	0	0	0	10125	2700	270
2815	0	768	0	0	0	13440	4800	192
2816	0	1806	0	0	0	20468	6622	1204
2864	--	--	--	--	--	--	--	--
2869	--	--	--	--	--	--	--	--
2870	--	--	--	--	--	--	--	--
2885	--	--	--	--	--	--	--	--
2898	--	--	--	--	--	--	--	--
2991	0	800	0	0	0	4320	2160	720
2992	0	64	0	0	0	4032	2048	256
2993	0	1197	0	133	133	7315	3458	1064
3049	--	--	--	--	--	--	--	--
3140	0	258	0	0	0	6450	1462	430
3372	--	--	--	--	--	--	--	--

Valores normais:

Basófilos: raro

Eosinófilos: 100 a 1250

Mielócitos: 0

Metamielócitos: 0

Bastões: 0 a 300

Segmentados: 3000 a 11500

Linfócitos: 1000 a 4800

Monócitos: 150 a 1350

Fonte: Jain (1993)

Quadro 4. Resultado dos exames bioquímicos nos cães com isolamento em cultura e/ou demonstração de formas amastigotas de *Leishmania* sp.

Prontuário	Uréia mg/dl	Creatinina mg/dl	Proteína g/dl	Albumina g/dl
2814	25	0,7	7,7	0,7
1815	26	0,8	7,0	0,9
2816	31	0,8	6,3	1,0
2864	34	1,8	--	1,0
2869	23	1,2	8,7	0,9
2870	24	1,3	7,8	0,8
2885	23	0,3	9,3	0,5
2898	10	0,9	9,2	0,6
2991	14	0,6	8,2	0,9
2992	63	1,1	9,5	0,2
2993	9,0	0,3	6,5	0,5
3049	--	--	--	--
3140	--	--	--	--
3372	--	--	--	--

Valores normais:

Uréia: 21,4 – 59,9 mg/dl

Creatinina: 0,5 – 1,5 mg/dl

Proteína: 6,8 – 7,1 g/dl

Albumina: 2,6 – 3,3 g/dl

Fonte: Jain (1993)

4.3.9. INQUÉRITO SOROLÓGICO CANINO

Vinte e dois (44%; n=50) cães foram soropositivos na IFI. Seguiu-se o critério utilizado pela Fundação Nacional de Saúde FUNASA (M.S., 2000), segundo o qual, cães com títulos de anticorpos maior ou igual a 1:40 são considerados positivos para leishmanioses (Quadro 5).

Os animais com leishmaniose comprovada no exame parasitológico obtiveram maior positividade no ELISA, 71,4% (n=13), do que na IFI, 57,1% (n=13) (Quadro 6).

A partir desse resultado foi avaliada a intensidade de concordância entre os dois testes utilizando-se o índice Kappa. Houve uma concordância de 52%, considerada ruim (Quadro 7). A divisão arbitrária para interpretação dos resultados foi: Kappa < 20% desprezível; 21 a 40% mínimo; 41 a 60% ruim; 61 a 80% bom; acima de 81% ótimo.

Quadro 5. Resultado sorológico obtido pelo teste de Imunofluorescência Indireta (IFI) em 50 cães.

Título	Nº absoluto de soros	Porcentagem
1-40	8	15,4
1-80	3	5,8
1-160	3	5,8
1-320	4	7,7
1-640	2	3,8
Não Realizado	2	3,8
Negativo	30	57,7
Total	52	100,0

Quadro 6. Comparação entre IFI e ELISA dos cães com isolamento em cultura e/ou demonstração de formas amastigotas de *Leishmania* sp.

		ELISA			Total
		Não Realizado	Positivo	Negativo	
IFI	Não Realizado	1	0	0	1
	1-40	0	2	0	2
	1-80	0	1	0	1
	1-160	0	2	0	2
	1-320	0	2	0	2
	Negativo	0	3	3	6
Total		1	10	3	14

Quadro 7. Concordância entre IFI e ELISA em cães com isolamento em cultura e/ou demonstração de formas amastigotas de *Leishmania* sp.

	ELISA Positivo	ELISA Negativo	Total
IFI Positivo	7	0	7
IFI Negativo	3	3	6
Total	10	3	13

4. 4. INQUÉRITO FELINO

4. 4. 1. EXAME CLÍNICO DOS FELINOS COM LTA

Foram examinados 42 gatos domésticos sendo 22 (52,38%) machos. Cinco 11,9% (n=42) apresentavam lesões cutâneas ulceradas, em três (7,1%) dos quais foi diagnosticada LTA (Figuras 11, 12, 13 e 14). Os três animais positivos eram fêmeas, sem raça definida (SRD), habitavam regiões de mata fechada e durante o período noturno permaneciam fora da residência. Uma das gatas apresentava duas lesões ulceradas no nariz, dispnéia, aumento do plano nasal, mucosas nasais sem alterações visíveis e apresentava bom estado geral. Outra gata apresentava lesão vegetante na mucosa nasal direita, nódulo e edema no nariz, espirros freqüentes, alimentava-se bem e encontrava-se em bom estado geral. A terceira apresentava lesão ulcerada, nódulo e edema no nariz e mucosas nasais, dispnéia, aumento do plano nasal, anorexia, emagrecimento, desidratação, apatia, adenite regional (mandibulares) e estado geral ruim.

Dos dois felinos com lesões cutâneas que apresentaram resultados negativos nos exames parasitológicos eram um macho, SRD, com lesão ulcerada de bordas elevadas com três milímetros de diâmetro no pavilhão auricular direito e uma fêmea, SRD, com lesões recobertas por crostas, na região abdominal e no tórax ventral. Os dois apresentavam linfonodos regionais palpáveis (poplíteos), apetite preservado e estavam em bom estado geral.



Figura 11: Felino com LTA apresentando lesão cutânea ulcerada com bordas elevadas e fundo granulomatoso em plano nasal (Serviço de Zoonoses / IPEC, 2004).



Figura 12: Felino com LTA apresentando edema e obstrução de focas nasais (Serviço de Zoonoses / IPEC, 2004).

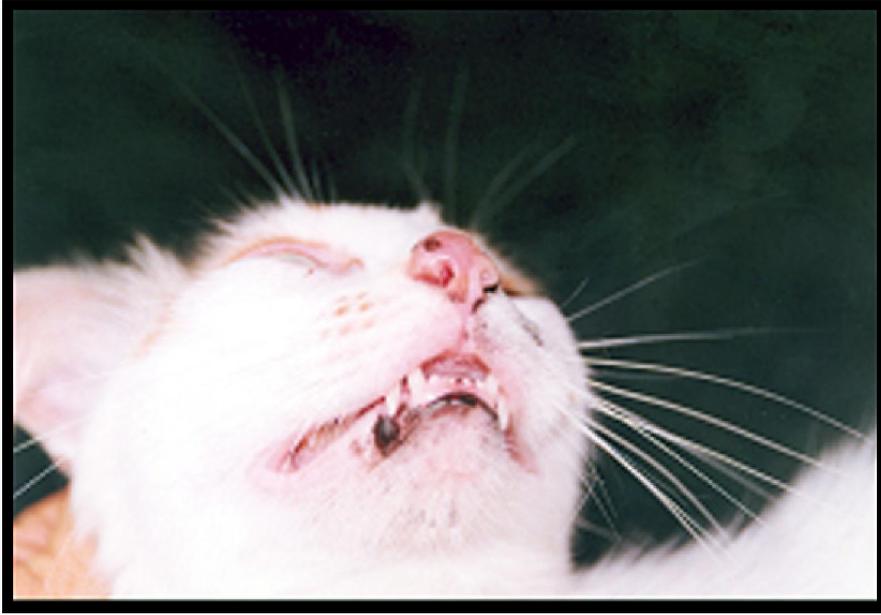


Figura 13: Felino com LTA apresentando nódulo nasal e lesão ulcerada na mucosa nasal (Serviço de Zoonoses / IPEC, 2004).



Figura 14: Felino com LTA apresentando duas lesões cutâneas ulceradas com bordas elevadas e fundo granulomatoso em plano nasal (Serviço de Zoonoses / IPEC, 2004).

4. 4. 2. ISOLAMENTO DE *LEISHMANIA* SP. EM CULTURA

Foi isolado *Leishmania* sp. de três felinos que apresentavam lesões cutâneas. Não foi possível a realização de um segundo exame nos dois animais negativos para a confirmação dos resultados, devido à regressão das lesões.

4. 4. 3. IDENTIFICAÇÃO DE *LEISHMANIA* SP. NOS ISOLADOS DOS FELINOS

A caracterização dos isolados foi realizada a partir das enzimas G6PDH; GPI; NH1; NH2 e 6PGDH sendo que o padrão encontrado nos três casos era semelhante à cepa referência de *Leishmania (Viannia) braziliensis* - MHOM/BR/75/M2903 (Figuras 15 e 16).

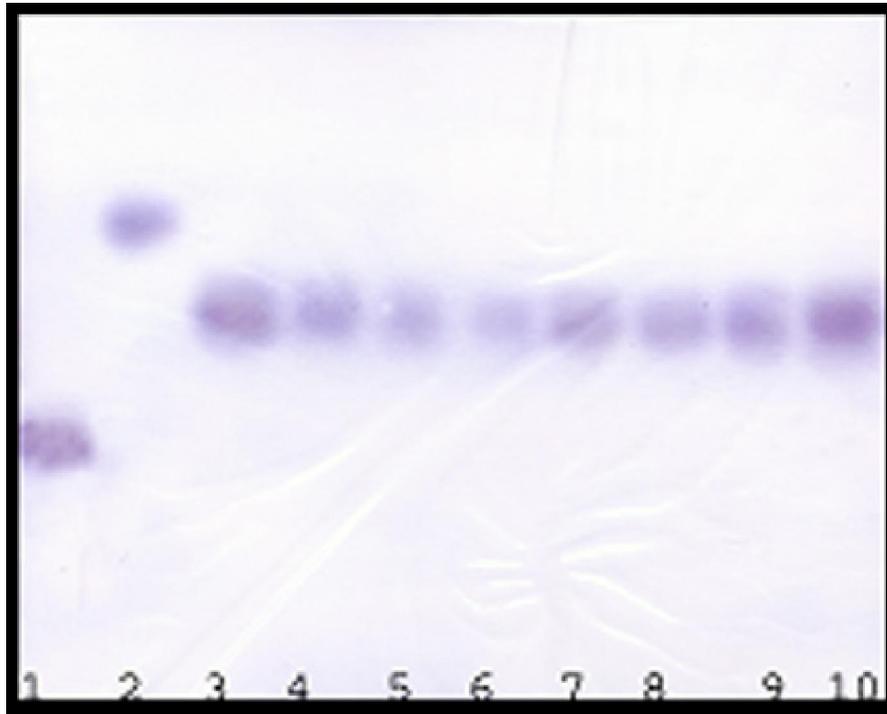


Figura 15: Perfil eletroforético das amostras isoladas dos felinos e cães glicose fosfo-isomerase GPI (Serviço de Parasitologia / IPEC, 2004).

1) *L. (L.) amazonensis* (IFLA/BR/67/PH8); 2) *L. (L.) chagasi* (MHOM/BR/74/PP75); 3) *L. (V.) braziliensis* (MHOM/BR/75/M2903); 4) 3372; 5) 2826; 6) 2898; 7) 2991; 8) 2866 nódulo; 9) 2866 lesão; 10) *L. (V.) braziliensis* (MHOM/BR/75/M2903).

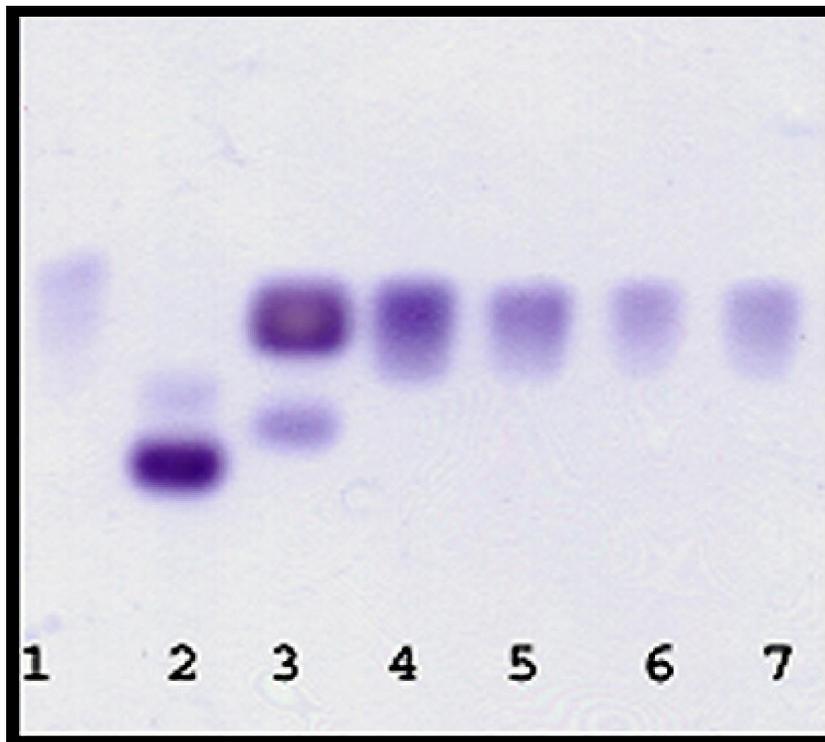


Figura 16: Perfil eletroforético das amostras isoladas dos felinos e cães glicose fosfo-isomerase GPI (Serviço de Parasitologia / IPEC, 2004).

1) *L. (V.) guyanensis*; 2) *L. (L.) amazonensis* (IFLA/BR/67/PH8); 3) *L. (L.) chagasi* (MHOM/BR/74/PP75); *L. (V.) braziliensis* (MHOM/BR/75/M2903); 5) 1747; 6) 1630; 7) *L. (V.) braziliensis*(MHOM/BR/75/M2903).

4. 4. 4. EXAME MICOLÓGICO FELINO

No exame micológico realizado através das culturas das biópsias felinas não houve isolamento de fungos patogênicos.

4. 4. 5. EXAME HISTOPATÓLOGICO FELINO

Nos exames histopatológicos foram observadas formas amastigotas e processo inflamatório crônico inespecífico em dois (50%; n=4) gatos que apresentavam lesões. Em outros dois, um positivo e outro negativo na cultura, observou-se somente processo inflamatório crônico granulomatoso. No quinto animal não houve material suficiente para o exame.

Não foram observados células neoplásicas e fungos patogênicos.

4. 4. 6. EXAME PARASITOLÓGICO DE ESFREGAÇO POR APOSIÇÃO

No exame parasitológico de esfregaço por aposição realizado em 4 felinos, não houve identificação de formas compatíveis com *Leishmania* sp., *S. schenckii* ou outro agente etiológico.

4. 4. 7. EXAME SOROLÓGICO PARA FIV E FELV

Foi realizada sorologia para FIV e FeLV em 34 80,9% (n=42) dos felinos estudados, dos quais 6 (17,7%) foram positivos para FeLV e 28 foram negativos para ambos os testes, inclusive os animais com leishmaniose.

4. 5. OUTROS ANIMAIS DOMÉSTICOS

Foi registrada a presença de galinhas em 14 (22,2%; n=62) das residências estudadas, de suínos em três (4,7%) e de eqüídeos em duas (3,1%). Foram examinados um eqüino, uma mula e cinco suínos não sendo observadas lesões sugestivas de leishmaniose em nenhum destes animais.

4. 6. HUMANOS

Durante o estudo foram encontradas 12 pessoas que relataram ter adoecido, mas que não estavam relacionadas entre os casos índices. Entre esses casos foram encontrados pacientes mais antigos do próprio IPEC, antes de 2002, e pacientes tratados em outras instituições. A porcentagem do total de casos em relação à amostra estudada foi de 13,7% (n=248).

5. DISCUSSÃO

No estado do Rio de Janeiro, a leishmaniose tegumentar americana (LTA) causada pela *L. (V.) braziliensis* é endêmica e está relacionada a áreas onde a floresta original foi substituída por plantações agrícolas ou vegetações secundárias. Neste perfil, periferias urbanas e zonas rurais apresentam o ciclo doméstico e peridoméstico da LTA com o acometimento de seres humanos, cães, eqüinos e felinos (D'Utra e Silva, 1915; Cerqueira, 1922; Aguilar *et al.*, 1987; Oliveira-Neto *et al.*, 1988; Marzochi & Marzochi, 1994; Schubach *et al.*, 2004).

O presente estudo avalia a ocorrência de LTA em cães e gatos domésticos, domiciliados e semidomiciliados nos arredores e moradias correlacionados aos casos índices humanos residentes na região do Mendanha, Município do Rio de Janeiro.

Nos domicílios estudados, as características de suas localizações assemelham-se a encontrada por Follador *et al.* (1999) em Canoa, Santo Amaro, Bahia onde o maior índice de indivíduos doentes estava relacionado a regiões de desmatamentos recentes e antigos na proximidade da floresta. Kawa & Sabroza (2002) associaram a espacialização da LTA na cidade do Rio de Janeiro com locais de elevado crescimento demográfico e com as margens de reservas ambientais.

A participação dos cães na epidemiologia dessa protozoose começou a ser mais estudada a partir das três últimas décadas, principalmente devido ao frequente encontro da infecção desses animais nas áreas endêmicas (Silveira *et al.*, 1996a; Falqueto *et al.*, 2003).

Durante o presente estudo, foi registrada uma prevalência alta de cães domésticos infectados por *Leishmania* sp.. Barbosa *et al.* (1999) obtiveram isolamento em cultura em 7,8% (n=215) caninos. Gontijo *et al.* (2002) encontraram 4,5% animais infectados em 156 cães avaliados e Dos Santos *et al.* (2005) isolaram o parasita de 4,4% (n=138) caninos da região de Paracambi, Rio de Janeiro.

Na correlação entre os casos humanos e animais não evidenciamos associação, o que talvez possa ser devido o número de casos estudados. Falqueto *et al.* (Falqueto *et al.*, 1991) mostraram maior taxa de pacientes humanos em residências co-habitadas por cães doentes. Reithinger *et al.* (2003) ao estudarem Huanuco, Peru evidenciaram que a presença de cães infectados por *L. (Viannia)* favoreceu a infecção de seus proprietários.

Contudo, Gomes *et al.* (1990) ao avaliarem a exposição de cães sentinelas a ambiente de floresta e peridomicílio em área endêmica de LTA, sugeriram que o cão não exerce significância como hospedeiro extra-florestal. Savani *et al.* (1999) além de não constatarem a soro-positividade em 937 cães errantes de área endêmica, discutiram sobre o microfoco de LTA autóctone ocorrido na Serra da Cantareira, em 1995, no qual nem os cães do domicílio em que houve os casos humanos nem os dos vizinhos, apresentaram lesões sugestivas da doença, nem sorologia positiva.

No exame dermatológico realizado nos caninos deste estudo, positivos para LTA, houve predomínio de lesões cutâneas ulceradas com bordas elevadas e fundo granulomatoso, a maioria possuía lesão única na orelha. Esses resultados são semelhantes aos descritos por Falqueto *et al.* (1986), nos quais 96,7% (n=31) dos cães infectados apresentavam úlceras e 74,2% (n=31) das quais localizadas nas orelhas. Também Madeira *et al.* (2003) descreveram a maior parte das lesões encontradas nos caninos como únicas, ulceradas, de evolução crônica e com predominância nas orelhas.

No isolamento do agente etiológico realizado nos cães estudados foram caracterizados animais infectados por *L. (V.) braziliensis* e *L. (L.) chagasi*. Esse resultado difere da maioria dos relatos que constatarem a presença de uma única espécie de *Leishmania* nas respectivas áreas estudadas por De Castro *et al.* (2005) e Falqueto *et al.* (1986), excetuando-se no Rio de Janeiro (Marzochi *et al.*, 1985). Recentemente foi descrita a infecção mista em um cão doméstico no município do Rio de Janeiro reforçando a importância da caracterização das amostras e do estudo da sobreposição das áreas de transmissão dessas duas doenças (Madeira *et al.*, 2005b).

Pela histopatologia, confirmamos a presença do parasita em 11,5% (n=26) dos cães, enquanto que no exame de esfregaço por aposição esse valor foi de 30,9% (n=26). A maior positividade no exame de esfregaço por aposição sobre o exame histopatológico também foi descrita por Pirmez *et al.* (1988b) quando demonstraram respectivamente 69,2% (n=13) e 32,1% (n=28) em seus resultados.

Utilizando a técnica de IFI no inquérito sorológico canino, encontramos maior positividade que a descrita por Silveira *et al.* (1996b) em uma região agrícola do estado do Paraná, onde 18,2% (n=132) dos caninos apresentaram títulos significativos de anticorpos através dessa técnica. Na comparação das técnicas de IFI e ELISA entre os animais com leishmaniose comprovada pelo exame parasitológico, obtivemos maior positividade no ELISA com 71,4% (n=13) do que na IFI com 57,1% (n=13), proporção semelhante à achada por Madeira *et al.* (2003).

Nos hemogramas e bioquímicas séricas realizados nos caninos não foram observadas alterações relevantes.

As leishmanioses felinas têm sido relatadas esporadicamente, sugerindo que o gato doméstico seja um hospedeiro acidental desses parasitas. Contudo, seu verdadeiro papel como reservatório é pouco conhecido (Savani *et al.*, 2004).

No presente estudo, 87,5% (n=48) da população de felinos da área foram examinados, dos quais as alterações clínicas foram semelhantes as descritas por Simões-Mattos *et al.* (2005) que ao inocularam experimentalmente gatos domésticos com *L. (V.) braziliensis* e descreveram a evolução da doença a partir do quarto dia após a inoculação: iniciando com o surgimento de pápulas únicas que evoluíram com formação de nódulos e aumento de tamanho, assumindo formato irregular; seguidas por lesões satélites; acometimento de mucosas nasais com infiltrado e obstrução das narinas, além de adenite regional em 92,3% (n= 13) dos casos. Na comparação entre os sítios naturais de infecção, o presente estudo se diferencia das descrições de Craig *et al.* (1986) que encontraram lesões cutâneas ulceradas nas orelhas; de Passos *et al.* (1996) que descreveu lesão em um membro posterior, e de Bonfante-Garrido *et al.* (1991), que relataram o acometimento dos membros.

Os parasitos isolados dos três felinos foram identificaods como *L. (V.) braziliensis*. Dois destes casos haviam sido relatados previamente como o primeiro isolamento desta espécie em felinos no Brasil (Schubach *et al.*, 2004). No território nacional, a primeira descrição da detecção do gênero *Leishmania* em felinos ocorreu no Pará (Mello, 1940). Posteriormente a esse caso, Passos *et al.* (1996) através da PCR descreveram a infecção por parasito do subgênero *L. (Viannia)*. Savani *et al.* (2004) em São Paulo, relataram infecção de um felino por *L. (L.) infantum chagasi* e recentemente

De Sousa *et al.* (2005) isolaram *L. (L.) amazonensis* em um gato doméstico do Mato Grosso do Sul.

Nos exames micológicos realizados das biópsias de lesão dos felinos não houve crescimento de *S. schenckii*, agente causador da esporotricose e principal diagnóstico diferencial da LTA no Rio de Janeiro (Schubach *et al.*, 2004).

No exame histopatológico realizado nos felinos em que a cultura para *Leishmania* sp. foi positiva, foram observadas formas amastigotas em dois casos, sendo que no exame de esfregaço por aposição os três felinos foram negativos. Utilizando a técnica histopatológica para examinar o globo ocular de um felino, Leiva *et al.* (2005) encontraram numerosas estruturas intracelulares características do gênero *Leishmania*, que posteriormente foram identificadas como *L. infantum*. Em relação ao exame de esfregaço por aposição, Passos *et al.* (1996) encontraram raras formas amastigotas posteriormente identificadas como *L. (Viannia)*.

Alguns relatos da infecção felina por *Leishmania* sp. estão associados à co-infecção pelo FIV e pelo FeLV (Hervas *et al.*, 2001; Poli *et al.*, 2002; Grevot *et al.*, 2005). No entanto, em nossa amostra não foi detectada a presença dessa co-infecção. Resultados semelhantes foram descritos por outros autores (Craig *et al.*, 1986; Barnes *et al.*, 1993; Hervas *et al.*, 1999; Savani *et al.*, 2004; Leiva *et al.*, 2005), favorecendo a idéia de que a infecção felina por *Leishmania* sp. não está relacionada obrigatoriamente à animais imunodeprimidos.

Com relação aos outros animais domésticos, o pequeno número de suínos e de eqüinos encontrados na área estudada, não permitiu avaliar a prevalência da LTA nesses animais.

Na região estudada foram encontrados 13,7% (n=248) de casos humanos, valor semelhante ao descrito por outros autores no Brasil (Falqueto *et al.*, 1991; Follador *et al.*, 1999; Gontijo *et al.*, 2002; de Castro *et al.*, 2005).

É possível que o elevado número de casos caninos e felinos associados aos casos humanos, estejam relacionados com a proximidade das residências a mata. Segundo Forattini *et al.* (1976) esse ambiente concentra o maior densidade flebótomos, aumentando a chance da transmissão da LTA.

6. CONCLUSÕES

- O número de casos de LTA em gatos domésticos encontrados na região estudada foi elevado considerando a raridade a doença.
- A ocorrência de LTA em cães e gatos domésticos associados aos casos humanos na Serra do Mendanha, município do Rio de Janeiro, pode estar relacionada à proximidade dos domicílios ao meio ambiente silvestre.
- Apesar da área estudada também apresentar casos de esporotricose, nosso estudo não identificou animais ou seres humanos doentes.
- Na caracterização das amostras isoladas dos felinos e caninos, exceto uma não foi compatível com *L. (V.) braziliensis*. A caracterização dessa amostra canina como *L. (L.) chagasi* demonstra uma possível sobreposição de áreas entre as duas doenças.
- Na análise das alterações clínicas envolvendo os animais positivos para leishmaniose não foram evidenciadas formas graves da doença;
- Na comparação entre as duas técnicas sorológicas realizadas nos caninos positivos para leishmaniose o EISA apresentou maior positividade;
- Analisando os resultados dos exames hematológicos e bioquímicos, não evidenciamos diferenças entre os animais positivos e negativos para LTA.
- A co-infecção pelo FeLV parece não ter favorecido a susceptibilidade desses animais a infecção pela LTA.
- O estudo sugere que os casos de LTA em seres humanos não foram influenciados pela presença de animais infectados.

7. REFERÊNCIAS

- Aguilar CM, Rangel EF, Grimaldi Filho G, Momem H. Human, canine and equine leishmaniasis caused by *Leishmania braziliensis braziliensis* in an endemic area in the State of Rio de Janeiro. Mem Inst Oswaldo Cruz 1987;82(1):143.
- Almeida MA, Jesus EE, Sousa-Atta ML, Alves LC, Berne ME, Atta AM. Clinical and serological aspects of visceral leishmaniasis in northeast Brazilian dogs naturally infected with *Leishmania chagasi*. Vet Parasitol 2005;127(3-4):227-32.
- Aragão HB. Transmissão da leishmaniose no Brasil pelo *Phlebotomus intermedium*. Brazil Méd, 1922;36:129.
- Araújo Filho NA, J. R. Coura, al e. Leishmaniose tegumentar americana na Ilha Grande, Rio de Janeiro. IV. Reservatórios domésticos. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 1978; v.15:82-103.
- Barbosa GM, Marzochi MC, Massard CL, Lima GP, Confort EM. [Epidemiological aspects of canine American tegumentary leishmaniasis in the Municipality of Paraty, State of Rio de Janeiro, Brazil]. Cad Saude Publica 1999;15(3):641-6.
- Barnes JC, Stanley O, Craig TM. Diffuse cutaneous leishmaniasis in a cat. J Am Vet Med Assoc 1993;202(3):416-8.
- Basano SA, Camargo LMA. Leishmaniose tegumentar americana: histórico, epidemiologia e perspectivas de controle. Rev. Bras. Epidemiol. 2004;7(3).
- Bonfante-Garrido R, Urdaneta I, Urdaneta R, Alvarado J. Natural infection of cats with *Leishmania* in Barquisimeto, Venezuela. Trans R Soc Trop Med Hyg 1991;85(1):53.
- Borges JS. Biossegurança em Experiência Animal: um enfoque microbiológico. I ed. Niterói; 1998.
- Brazil RP, Desterro MD, Nascimento SB, Macau RP. [Natural infection of a pig (*Sus scrofa*) by *Leishmania* in a recent focus of cutaneous leishmaniasis on the Island of Sao Luis, Maranhao]. Mem Inst Oswaldo Cruz 1987;82(1):145.
- C.C.Z. Centro de Controle de Zoonoses. In. Rio de Janeiro; 2003.
- C.R.Leish. Atendimento Ambulatorial do Centro de Referência em Leishmanioses - IPEC - Fiocruz. In; 2002.
- Cabrera MA, Paula AA, Camacho LA, Marzochi MC, Xavier SC, da Silva AV, et al. Canine visceral leishmaniasis in Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro, Brazil: assessment of risk factors. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 2003;45(2):79-83.
- Cerqueira AGC, and Vasconcelos, A. A leishmaniose nesta capital. Bol. Sanit 1922;1:35.
- Chang KP, Hendricks LD. Leishmaniasis, Elsevier, Amsterdam.; 1985.

Costa -Durão JF, Rebelo, E., Peleteiro, M. C., Correia, J. J., and Simões, G. Primeiro caso de leishmaniose em gato doméstico (*Felis catus domesticus*) detectado em Portugal (Conselho de Sesimbra). Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias 1994;89:140-144.

Craig TM, Barton CL, Mercer SH, Droleskey BE, Jones LP. Dermal leishmaniasis in a Texas cat. Am J Trop Med Hyg 1986;35(6):1100-2.

Cupolillo E, Grimaldi JG, Momen H. A general classification of new world *Leishmania* using numeral zymotaxonomy. American Journal Tropical Medicine Hygiene 1994;50:296-311.

de Castro EA, Luz E, Telles FQ, Pandey A, Biseto A, Dinaiski M, et al. Eco-epidemiological survey of *Leishmania (Viannia) braziliensis* American cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis in Ribeira Valley River, Parana State, Brazil. Acta Trop 2005;93(2):141-9.

de Souza AI, Barros EM, Ishikawa E, Ilha IM, Marin GR, Nunes VL. Feline leishmaniasis due to *Leishmania (Leishmania) amazonensis* in Mato Grosso do Sul State, Brazil. Vet Parasitol 2005;128(1-2):41-5.

Deane LM, Deane MP. Visceral Leishmaniasis in Brazil: Geographical Distribution and Transmission. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo 1962;4:198-212.

Deane LM, Deane MP. Observações preliminares sobre a importância comprovativa do homem, do cão e da rapôsa (*Lycalopex vetulus*) como reservatórios da *Leishmania donovani*, em área endêmica de calazar, no Ceará. O Hospital 1955;julho(1).

Dias M, Mayrink W, Deane LM, da Costa CA, Magalhaes PA, Melo MN, et al. [Epidemiology of mucocutaneous leishmaniasis Americana. I. Study of reservoirs in an endemic region of the State of Minas Gerais]. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 1977;19(6):403-10.

dos Santos GP, Sanavria A, Marzochi MC, dos Santos EG, Silva VL, Pacheco Rda S, et al. [Prevalence of canine infection from endemic areas of American cutaneous leishmaniasis in Paracambi District, Rio de Janeiro State, between 1992 and 1993]. Rev Soc Bras Med Trop 2005;38(2):161-6.

D'Utra e Silva O. Sobre a leishmaniose tegumentar e seu tratamento. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 1915;7:213-248.

Falqueto A, Coura JR, Barros GC, Grimaldi Filho G, Sessa PA, Carias VR, et al. [Participation of the dog in the cycle of transmission of cutaneous leishmaniasis in the municipality of Viana, State of Espírito Santo, Brazil]. Mem Inst Oswaldo Cruz 1986;81(2):155-63.

Falqueto A, Sessa PA, Ferreira AL, Vieira VP, Santos CB, Varejao JB, et al. Epidemiological and clinical features of *Leishmania (Viannia) braziliensis* American cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis in the State of Espírito Santo, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 2003;98(8):1003-10.

Falqueto A, Sessa PA, Varejao JB, Barros GC, Momen H, Grimaldi Junior G. Leishmaniasis due to *Leishmania braziliensis* in Espírito Santo State, Brazil. Further evidence on the role of dogs as a reservoir of infection for humans. Mem Inst Oswaldo Cruz 1991;86(4):499-500.

Ferreira WA, Mayrink W, dos Mares-Guia ML, Tavares CA. Detection and characterization of *Leishmania* antigens from an American cutaneous leishmaniasis vaccine for diagnosis of visceral leishmaniasis. Diagn Microbiol Infect Dis 2003;45(1):35-43.

Follador I, Araujo C, Cardoso MA, Tavares-Neto J, Barral A, Miranda JC, et al. [Outbreak of American cutaneous leishmaniasis in Canoa, Santo Amaro, Bahia, Brazil]. *Rev Soc Bras Med Trop* 1999;32(5):497-503.

Fonseca F. Infecção experimental do cão por cultura de *Leishmania braziliensis*. *Ann. Fac. Med.* 1928;3:53.

Galimberti MZ, Katz G, V.L.F. C-N, Rodas LAC, Casanova C, Costa AI. Leishmaniose visceral americana no Estado de São Paulo. *Rev Soc Bras Med Trop* 1999;1:217.

Genaro O, da Costa CA, Williams P, Silva JE, Rocha NM, Lima SL, et al. [Occurrence of kala-azar in the urban area of Grande Belo Horizonte, Minas Gerais]. *Rev Soc Bras Med Trop* 1990;23(2):121.

Gomes AC, Coutinho SA, Pain GV, Oliveira SMO, Galati EA, Nunes MP, et al. Aspectos Ecológicos da Leishmaniose Tegumentar Americana. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo* 1990;32(2):105-115.

Gontijo B, de Carvalho ML. [American cutaneous leishmaniasis]. *Rev Soc Bras Med Trop* 2003;36(1):71-80.

Gontijo CM, da Silva ES, de Fuccio MB, de Sousa MC, Pacheco RS, Dias ES, et al. Epidemiological studies of an outbreak of cutaneous leishmaniasis in the Rio Jequitinhonha Valley, Minas Gerais, Brazil. *Acta Trop* 2002;81(2):143-50.

Grevot A, Jaussaud Hugues P, Marty P, Pratlong F, Ozon C, Haas P, et al. Leishmaniosis due to *Leishmania infantum* in a FIV and FeLV positive cat with a squamous cell carcinoma diagnosed with histological, serological and isoenzymatic methods. *Parasite* 2005;12(3):271-5.

Hervas J, Chacon MDLF, Sanchez-Isarria MA, Pellicer S, Carrasco L, Castillo JA, et al. Two cases of feline visceral and cutaneous leishmaniosis in Spain. *J Feline Med Surg* 1999;1(2):101-5.

Hervas J, Chacon-Manrique de Lara F, Lopez J, Gomez-Villamandos JC, Guerrero MJ, Moreno A. Granulomatous (pseudotumoral) iridocyclitis associated with leishmaniasis in a cat. *Vet Rec* 2001;149(20):624-5.

Ishida T, Taniguchi A, Matsumura S, Washizu T, Tomoda I. Long-term clinical observations on feline immunodeficiency virus infected asymptomatic carriers. *Vet Immunol Immunopathol* 1992;35(1-2):15-22.

Jain NC. *Essentials of veterinary hematology*. 1 ed. Malvern, Pennsylvania - USA: Lea & Febinger; 1993.

Kawa H, Sabroza PC. [Spatial distribution of tegumentary leishmaniasis in the city of Rio de Janeiro]. *Cad Saude Publica* 2002;18(3):853-65.

Leiva M, Lloret A, Pena T, Roura X. Therapy of ocular and visceral leishmaniasis in a cat. *Vet Ophthalmol* 2005;8(1):71-5.

- Levine DF, Witherspoon DE, Gutmann JL, Nunn ME, Newman JT, Iacopino AM. The effect of FIV infection on CD4+ and CD8+ counts in periradicular lesions. *Int Endod J* 2001;34(8):586-93.
- Lopes UG, Momen H, Grimaldi G, Jr., Marzochi MC, Pacheco RS, Morel CM. Schizodeme and zymodeme characterization of *Leishmania* in the investigation of foci of visceral and cutaneous leishmaniasis. *J Parasitol* 1984;70(1):89-98.
- Luna LG. *Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology*, McGraw-Hill, New York. 1968.
- M.S. Manual de vigilância e controle da Leishmaniose Visceral. Ministério da Saúde, Brasília. 2003:122.
- M.S. Manual de Controle da Leishmaniose Tegumentar Americana. Ministério da Saúde, Fundação Nacional de Saúde, Brasília. 2000:62.
- M.S. Manula de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. Brasília-DF. Ministério da Saúde - MS (ed), Brasília. 2003.
- Machattie C, Mills, E. A., and Chadwick, C. R. Naturally occurring oriental sore of the domestic cat in Iraq. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1931;XXV:103-107.
- Madeira F, Schubach Ade O, Schubach TM, Serra CM, Pereira SA, Figueiredo FB, et al. Is *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* preferentially restricted to the cutaneous lesions of naturally infected dogs? *Parasitol Res* 2005a;97(1):73-6.
- Madeira F, Uchoa CM, Leal CA, Macedo Silva RM, Duarte R, Magalhaes CM, et al. [*Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* in naturally infected dogs]. *Rev Soc Bras Med Trop* 2003;36(5):551-5.
- Madeira MF, Schubach A, Schubach TM, Pacheco RS, Oliveira FS, Pereira SA, et al. Mixed infection with *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* and *Leishmania* (*Leishmania*) *chagasi* in a naturally infected dog from Rio de Janeiro, Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2005b.
- Marzochi MC, Coutinho SG, De Souza WJ, De Toledo LM, Grimaldi Junior G, Momen H, et al. Canine visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro, Brazil. Clinical, parasitological, therapeutical and epidemiological findings (1977-1983). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1985;80(3):349-57.
- Marzochi MCA. Leishmanioses no Brasil: As leishmanioses tegumentares. *J. Bras. Med* 1992;63:82-104.
- Marzochi MCA, Marzochi KBF. Tegumentary and visceral leishmaniasis in Brazil: emerging anthroponosis and possibilities for their control. *Cad Saude Publica* 1994;10 Suppl 2:359-75.
- Mauricio IL, Stothard JR, Miles MA. The strange case of *Leishmania chagasi*. *Parasitol Today* 2000;16(5):188-9.
- Mello GB. Verificação da infecção natural do gato (*Felix domesticus*) por um protozoário do genero *Leishmania*. *Brasil Médico* 1940;54,:180.

Oliveira CC, Lacerda HG, Martins DR, Barbosa JD, Monteiro GR, Queiroz JW, et al. Changing epidemiology of American cutaneous leishmaniasis (ACL) in Brazil: a disease of the urban-rural interface. *Acta Trop* 2004;90(2):155-62.

Oliveira-Neto MP, Pirmez C, Rangel E, Schubach A, Grimaldi Junior G. An outbreak of American cutaneous leishmaniasis (*Leishmania braziliensis braziliensis*) in a periurban area of Rio de Janeiro city, Brazil: clinical and epidemiological studies. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1988;83(4):427-35.

Ozon C, Marty P, Pratlong F, Breton C, Blein M, Lelievre A, et al. Disseminated feline leishmaniasis due to *Leishmania infantum* in Southern France. *Vet Parasitol* 1998;75(2-3):273-7.

Palatnik-de-Sousa CB, dos Santos WR, Franca-Silva JC, da Costa RT, Reis AB, Palatnik M, et al. Impact of canine control on the epidemiology of canine and human visceral leishmaniasis in Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 2001;65(5):510-7.

Passos VM, Falcao AL, Marzochi MC, Gontijo CM, Dias ES, Barbosa-Santos EG, et al. Epidemiological aspects of American cutaneous leishmaniasis in a periurban area of the metropolitan region of Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1993;88(1):103-10.

Passos VM, Lasmar EB, Gontijo CM, Fernandes O, Degraeve W. Natural infection of a domestic cat (*Felis domesticus*) with *Leishmania (Viannia)* in the metropolitan region of Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1996;91(1):19-20.

Pedroso A. A leishmaniose local do cão. *Ann. Paul. Med. Cir.* 1913;1:1-33.

Pennisi MG, Masucci M, al.; Et. Anti-*Leishmania* Antibodies in FIV+ Cats from an Endemic Area. *Atti Della Società Italiana Delle Scienze Veterinarie* 1998;LII:264-267.

Pereira APC, Coutinho SDA. Criptococose em cães e gatos -revisão. *Clínica Veterinária* 2003;45:24-32.

Pirmez C, Coutinho SG, Marzochi MC, Nunes MP, Grimaldi G, Jr. Canine American cutaneous leishmaniasis: a clinical and immunological study in dogs naturally infected with *Leishmania braziliensis braziliensis* in an endemic area of Rio de Janeiro, Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 1988a;38(1):52-8.

Pirmez C, Marzochi MC, Coutinho SG. Experimental canine mucocutaneous leishmaniasis (*Leishmania braziliensis braziliensis*). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1988b;83(2):145-51.

Poli A, Abramo F, Barsotti P, Leva S, Gramiccia M, Ludovisi A, et al. Feline leishmaniasis due to *Leishmania infantum* in Italy. *Vet Parasitol* 2002;106(3):181-91.

Reithinger R, Canales Espinoza J, Llanos-Cuentas A, Davies CR. Domestic dog ownership: a risk factor for human infection with *Leishmania (Viannia)* species. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2003;97(2):141-5.

Rippon J. The true pathogenic fungus infections and the opportunistic fungus infections. In: Rippon J, editor. *Medical Mycology - The Pathogenic Fungi and the Pathogenic Actinomycetes*. 3rd ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company; 1988. p. 373-380.

S.M.S. Secretaria Municipal de Saude - Rio de Janeiro-R.J. : Inquérito sorológico canino para Leishmanioses realizado no primeiro semestre de 2005. In; 2005a.

S.M.S. Secretaria Municipal de Saude - Rio de Janeiro-R.J. 2005b.

Sampaio LF. O aparecimento, a expansão e o fim da leishmaniose no Estado de São Paulo. Rev. Bras. Med 1951;8(10):717-721.

Santa Rosa ICA, Oliveira ICS. Leishmaniose visceral: breve revisão sobre uma zoonose reemergente. Clinica Veterinária 1997;2:24-28.

Santos EG, Marzochi MC, Conceicao NF, Brito CM, Pacheco RS. 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. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 1998;40(1):41-7.

Savani ES, de Oliveira Camargo MC, de Carvalho MR, Zampieri RA, dos Santos MG, D'Auria SR, et al. The first record in the Americas of an autochthonous case of *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* in a domestic cat (*Felis catus*) from Cotia County, Sao Paulo State, Brazil. Vet Parasitol 2004;120(3):229-33.

Savani ES, Galati EA, Camargo MC, D'Auria SR, Damaceno JT, Balduino SA. [Serological survey for American cutaneous leishmaniasis in stray dogs in the S. Paulo State, Brazil]. Rev Saude Publica 1999;33(6):629-31.

Schubach TM, Figueiredo FB, Pereira SA, Madeira MF, Santos IB, Andrade MV, et al. American cutaneous leishmaniasis in two cats from Rio de Janeiro, Brazil: first report of natural infection with *Leishmania (Viannia) braziliensis*. Trans R Soc Trop Med Hyg 2004;98(3):165-7.

Serra CM, Leal CA, Figueiredo F, Schubach TM, Duarte R, Uchoa CM, et al. [Canine tegumentary leishmaniasis in Morada das Aguias (Serra da Tiririca), Marica, Rio de Janeiro, Brazil]. Cad Saude Publica 2003;19(6):1877-80.

Silva-Costa RG. Mapeamento Geo-Ambiental do Complexo Gericinó-Mendinha e Áreas Circunvizinhas-Zona oeste do Município do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro; 1998.

Silveira TG, Teodoro U, Lonardon MV, Guilherme AL, Toledo MJ, Ramos M, et al. [Epidemiologic aspects of Cutaneous Leishmaniasis in an endemic area of the state of Parana, Brazil]. Cad Saude Publica 1996a;12(2):141-147.

Silveira TG, Teodoro U, Lonardon MV, Toledo MJ, Bertolini DA, Arraes SM, et al. [Serologic survey of dogs in an endemic area of tegumentary leishmaniasis in Parana State, southern Brazil]. Cad Saude Publica 1996b;12(1):89-93.

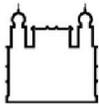
Simões-Mattos L, Mattos MR, Teixeira MJ, Oliveira-Lima JW, Bevilaqua CM, Prata-Junior RC, et al. The susceptibility of domestic cats (*Felis catus*) to experimental infection with *Leishmania braziliensis*. Vet Parasitol 2005;127(3-4):199-208.

Thomas J, Robinson E. Infección por el virus de la inmunodeficiencia felina. . Waltham Focus 1995.;5(2):Waltham Focus, v.5, n.2, p.24-30. 1995.

Werner AH, Werner BE. Sporotrichosis in man and animal. *Int J Dermatol* 1994;33(10):692-700.

Yoshida EL, Correa FM, Marques SA, Stolf HO, Dillon NL, Momen H, et al. Human, canine and equine (*Equus caballus*) leishmaniasis due to *Leishmania braziliensis* (= *L. braziliensis braziliensis*) in the south-west region of Sao Paulo State, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1990;85(1):133-4.

ANEXO I



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas



Serviço de Zoonoses

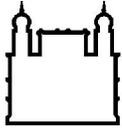
Termo de Consentimento

Eu, _____, portador da carteira de identidade nº _____, expedida pelo órgão _____, proprietário (a) do animal _____, espécie _____, raça _____, registro _____; autorizo que nele sejam aplicadas técnicas anestesiológicas como sedações, anestésias locais e ou gerais.

Autorizo também a utilização dos dados e materiais coletados para a pesquisa relacionada à Leishmaniose Tegumentar canina e felina com o título **“Avaliação da Ocorrência das Leishmanioses em Cães e Gatos Domésticos, correlacionados aos Casos Humanos Residentes em Área Endêmica do Município do Rio de Janeiro”**, realizada pelo responsável técnico Fabiano Borges Figueiredo CRMV: 6519, sabendo que a identificação desse animal será mantida em sigilo.

Rio de Janeiro, _____ de _____ 200_____

ANEXO II



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz


SERVIÇO DE ZONÓSES

CADASTRO:

Nome do animal:			
Data :		Prontuário:	
Espécie:	Raça:	Sexo:	Cor:
Vacinado:	Idade:	Castrado: S () N ()	
Endereço Residencial:			
Bairro	Cidade:	Estado:	
CEP:	TEL:	TEL:	
Pessoa para contato:			TEL:
Consulta Ambulatorial ()		Visita domiciliar ()	
Observações:			

DADOS CLÍNICOS:

Peso:	Temperatura:
Estado Geral: 0. Ignorado 1. Bom	2. Regular 3. Péssimo
Início das Lesões:	Número de Lesões:

Localização das Lesões: 0. Ignorado 1. Ausente 2. Orelha	 3. Nariz 4. Escroto 5. Outros
Características das Lesões: 1. Ignorado 2. Ausente 3. Úlcera	 4. Escoriação 5. Nódulo 6. Outras
Apresentação clínica: 0. Ignorado 1. Ausente 2. Localizada	 3. Localizada em dois pontos 4. Disseminada
Adenite: 0. Ignorado 1. Ausente	 2. Regional (_____) 3. Generalizada
Sinais: 0. Ignorado 1. Ausente 2. Alopecia local 3. Alopecia generalizada 4. Descamação cutânea furfurácea 5. Onicogribose 6. Anorexia	 7. Emagrecimento 8. Apatia 9. Epistaxe 10. Esplenomegalia 11. Hepatomegalia 12. Espirros 13. Dispneia
Outros sinais: 0. Ignorado 1. Ausente 2. Icterícia	 3. Desidratação 4. Diarréia 5. Êmese
Ectoparasitas: () a. Ignorado () b. Ausente () c. Carrapato	 () d. Pulga () e. Piolho () f. Outros

DADOS EPIDEMIOLÓGICOS:

Criação de outros animais no domicílio: 0. Ignorado 1. Ausente 2. Equinos	3. Suínos 4. Aves 5. outros
Outros gatos:	Outros cães:
Domicílio: 0. Ignorado 1. Área urbana 2. Área periurbana	3. Área rural 4. Ocupação de encostas 5. Região de matas fechadas
Ambiente do animal: 0. Ignorado 1. Dorme dentro de casa 2. Dorme no quintal	3. Vai para mata 4. Casa e quintal 5. Outros
Exames realizados: 0. Ignorado 1. Biópsia Parasitologia 2. Biópsia Micologia 3. Biópsia Histopatologia 4. Biópsia <i>Imprint</i>	5. Sorologia (RIFI-ELISA) <i>Leishmania</i> 6. Hemograma 7. Bioquímica 8. FIV/FeLV 9. Outros

Dados do proprietário:

Nome do Proprietário:		
Quantas pessoas moram na residência?		
Quantas pessoas com leishmaniose no domicílio?		
Paciente do IPEC: S () N ()		
Prontuário:	Prontuário:	Prontuário:
Que animais apareceram feridos antes de você?		
Quanto tempo antes? () Dias () Meses () Anos		
Como Ficaram? () Bem () Doentes () Recolhidos () Morreram		
Que animais apareceram feridos depois de você?		
Quanto tempo antes? () Dias () Meses () Anos		
Como estão? () Bem () Doentes () Recolhidos () Morreram		