

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Laysa Freire Franco e Silva

Avaliação epidemiológica da leishmaniose visceral canina na Paraíba

Patos/PB
2018

Laysa Freire Franco e Silva

Avaliação epidemiológica da leishmaniose visceral canina na Paraíba

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária.

Prof.^a Dr.^a Marcia Almeida de Melo

Prof. Dr. Walter Massa Ramalho

Patos/PB
2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSRT DA UFCG

S587a Silva, Laysa Freire Franco e
Avaliação epidemiológica de leishmaniose visceral canina na Paraíba /
Laysa Freire Franco e Silva. – Patos, 2018.
73f.: il.; color.

Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade
Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2018.

“Orientação: Profa. Dra. Marcia Almeida de Melo.”

“Co-orientação: Prof. Dr. Walter Massa Ramalho.”

Referências.

1. Calazar. 2. Distribuição espacial. 3. Doença negligenciada. 4.
Sorologia. I. Título.

CDU 614: 619

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

LAYSA FREIRE FRANCO E SILVA
Mestranda

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária.

APROVADO EM 21/02/2018

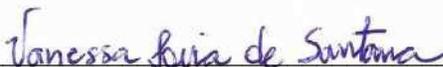
EXAMINADORES:



Prof.^a Dr.^a Marcia Almeida de Melo
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG
Presidente e Orientadora



Prof. Dr. Severino Silvano dos Santos Higino
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG
Membro Interno



Prof.^a Dr.^a Vanessa Lira de Santana
Coordenação de Medicina Veterinária/IFPB - Souza-PB
Membro Externo

Aos meus pais, Socorro e Cícero, pelo exemplo, força e amor infinito que me dão;
A minha Vó, Lourdes, minha certeza que felicidade existe;
Aos meus irmãos, Lindsay e Líneker, por terem me mostrado o caminho a ser seguido;
Ao meu amor, Rafael, pelo companheirismo e dedicação incansáveis.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Eu agradeço ao Senhor, Deus, por insistir em ficar do meu lado, mesmo quando não mereço. Por me provar todos os dias a força do seu amor e da sua bondade. Por se fazer suficiente para mim quando tudo parece vazio. Eu sei que falo muito, falo tanto, mas é no meu silêncio que escuto Tua voz ecoar dentro de mim. Obrigada por ser assim, obrigada por estar aqui e, principalmente, obrigada por me fazer acreditar, a cada vez que fraquejo, que o Senhor existe e que é por mim, agora e sempre.

Aos meus pais, Maria do Socorro e Cícero Antônio, como eu agradeço! Vocês me ensinam tanto! Como é bonita a força das atitudes, vocês não falam, simplesmente são e fazem, vocês agem, e eu aprendo. Onde eu estaria sem a senhora, mãe? Como eu entenderia a importância do conhecimento, de aprender, de questionar, de buscar sempre algo, o tempo todo? A senhora me ensinou a ter respeito, a ser leal, me fez entender o poder do merecimento, me fez acreditar nisso e lutar pelo que é meu, de direito. Como a senhora é extraordinária! E tu, pai? Não há no mundo alguém mais honesto e bondoso que o senhor, me ensinou a ter caráter e humildade, a tentar fazer as coisas com tranquilidade, dando sempre o melhor de mim. Com o senhor, aprendi sobre honestidade, sobre humildade, servidão. Que bonito o senhor é! Que orgulho e sorte de ter vocês por mim!

Aos meus irmãos, Lindsay e Líneker. Vocês foram, antes de mim, em busca desse caminho de conhecimento, foram e não voltaram mais. Continuam seguindo em frente, vencendo os obstáculos que aparecem e me mostrando que eu também posso, que também sou capaz. Ah, eu devo tanto do que me tornei a vocês. Amo muito vocês dois! Preciso agradecer, também, a minha irmãzinha, Lela, que viveu comigo durante 13 anos e, agora, vive dentro de mim! Nunca vou esquecer o seu focinho gelado me acordando toda manhã na hora da escola, às vezes, ainda sinto você aqui. Obrigada por me ensinar a amar os animais. Você sempre vai ser insubstituível para mim, meu amor!

Agradeço a minha Vó, Lourdes Brito, por todo amor, por todas as orações embaixo do “pé de pau” de sua calçada para que nada de mau me acontecesse, para que todos os meus sonhos e planos se concretizassem! Ô, voinha, amo seus conselhos, seu exemplo, sua força, amo a senhora do jeitinho que a senhora é! Coisa mais bonita da minha vida!!! Viva para sempre, por favor, hein?!!

Ao meu marido, Rafael, por todo amor, dedicação, cumplicidade. Obrigada, amor, por ser meu melhor amigo e por se orgulhar tanto de mim. Você enxerga em mim mais do que eu mesma sou capaz e me incentiva a ir mais além de onde eu imaginei chegar. Obrigada por me

amar como você ama, por não ir a lugar algum, por segurar minha mão e não soltar. Eu te amo demais!

Agradeço aos meus tios e tias, primos e primas, toda a minha família e a família do meu marido, pelo suporte, carinho, acolhimento. Amo todos vocês!

A todos os amigos que a vida colocou nesse caminho difícil da pós-graduação, para me dar apoio e carinho! Vocês são incríveis, agradeço a compreensão, o ombro amigo, os conselhos, as risadas, os dramas rsrs. Em especial a Sóstenes, Luanna e Saul. Obrigada, Arthur, por ter sido como um irmão para mim, especialmente nos últimos tempos, você me trouxe segurança e paz quando precisei. Lulu, obrigada por ter me ouvido nos meus momentos de tristeza, por me apoiar e me fazer rir o tempo todo. Saulzinho, só você para me fazer ver o lado bom em todas as circunstâncias da minha vida, obrigada por toda energia boa e positividade que me passa! Que bom ter vocês na minha vida!

Agradeço aos amigos do BiolMol pelas horas de trabalho e aprendizado, pelo suporte e colaboração. Em especial a Raizza, que bom ter você para me ajudar, aconselhar, apoiar e me servir de exemplo, amiga. Minha gratidão, orgulho e carinho por você só crescem, a cada dia, você foi essencial para que eu chegasse até aqui, muito obrigada!

Obrigada a minha orientadora, Márcia Almeida de Melo, pela confiança em meu trabalho, pelo incentivo para meu crescimento, pela paciência na orientação e generosidade com a qual compartilha seus conhecimentos. Se eu sei o caminho que quero seguir em minha vida foi porque a senhora me apresentou a Imunologia e, nunca mais, nada conseguiu trazer mais brilho aos meus olhos ou certeza para meu coração. Agradeço-te por tudo, Profa!

A todos os docentes e funcionários pela dedicação às suas profissões, pelo auxílio e palavras de conforto, sempre que necessário.

Enfim, meu sentimento de gratidão se estende a todos que, de uma forma ou outra, contribuíram e fizeram parte dessa trajetória.

SUMÁRIO

	Páginas
RESUMO.....	7
ABSTRACT	8
LISTA DE FIGURAS.....	9
LISTA DE QUADROS.....	10
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	11
LISTA DE SÍMBOLOS	12
1 INTRODUÇÃO GERAL	13
REFERÊNCIAS	15
2 CAPITULO I: AVALIAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA EM MICRORREGIÃO DO AGRESTE PARAIBANO, BRASIL.....	17
ABSTRACT	18
RESUMO.....	19
INTRODUÇÃO	20
MATERIAL E MÉTODOS	21
RESULTADOS	23
DISCUSSÃO	24
CONCLUSÕES.....	27
REFERÊNCIAS	27
3 CAPITULO II: PREVALÊNCIA, FATORES DE RISCO E DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA NO MUNICÍPIO DE SÃO JOSÉ DE ESPINHARAS, SERTÃO PARAIBANO, BRASIL.....	41
ABSTRACT	42
RESUMO.....	43
INTRODUÇÃO	44
MATERIAL E MÉTODOS	45
RESULTADOS	47
DISCUSSÃO	48
CONCLUSÕES.....	50
REFERÊNCIAS	50
4 CONCLUSÕES GERAIS	63
ANEXOS	64

RESUMO

A leishmaniose visceral (LV) é uma zoonose de grande importância para a Saúde Pública e endêmica em diversas regiões do Brasil; a presença da enfermidade nos cães costuma preceder os casos humanos. O Capítulo I do presente trabalho objetivou estimar a prevalência da leishmaniose visceral canina (LVC) em municípios da microrregião de Umbuzeiro, Agreste Paraibano, e identificar os fatores de risco associados à sua ocorrência. Foram coletadas 540 amostras de sangue de cães das zonas urbana e rural dos municípios. A prevalência de LV foi determinada através das técnicas sorológicas ELISA/S7[®], DPP[®] e EIE-LVC[®]. Os fatores de risco foram determinados por meio das análises estatísticas uni e multivariada. A prevalência encontrada na microrregião foi de 12,8%. A prevalência por município foi de 10% em Aroeiras, 11% em Umbuzeiro, 18,8% em Gado Bravo e 13,8% em Natuba. Os fatores de risco encontrados para a microrregião foram: morar na zona rural (*Odds Ratio* = 2,280) e contato com equídeos (*Odds Ratio* = 4,326), enquanto que a alimentação com ração comercial associada à comida caseira se apresentou como um fator de proteção (*Odds Ratio* = 0,404). Observou-se que os cães que possuem contato com outros cães (*Odds Ratio* = 7,888), cães com mais de seis anos (*Odds Ratio* = 2,122) e fêmeas (*Odds Ratio* = 3,171) possuem mais chances de contrair a doença nos municípios de Umbuzeiro, Natuba e Gado Bravo, respectivamente, e alimentação com ração associada à comida caseira foi um fator de proteção em Aroeiras (*Odds Ratio* = 0,309). Através da citologia, observaram-se formas amastigotas apenas nas lâminas de baço em 20% dos animais avaliados. A presença de LVC amplamente distribuída nos municípios estudados e de fatores de risco para a infecção demonstram a necessidade de medidas de controle mais adequadas para a região. O Capítulo II teve como objetivo estimar a prevalência da LVC no município de São José de Espinharas, Semiárido Paraibano, identificar os fatores de risco e observar o padrão de distribuição espacial. Foram coletadas 223 amostras de sangue de cães da zona urbana e rural do município. A prevalência de LVC foi determinada através das técnicas sorológicas ELISA/S7[®] e DPP[®]. Os fatores de risco foram determinados por meio das análises estatísticas uni e multivariada. A análise espacial foi realizada nos programas QGIS, SatScan e Google Earth a partir das coordenadas obtidas por GPS (Global Position System). A prevalência encontrada no município foi de 8,5%. Na zona rural, o contato com pequenos ruminantes foi identificado como fator de risco para a infecção (*Odds Ratio* = 4,621). Os casos de LVC se concentraram em áreas com desmatamento da vegetação local nas zonas rural e urbana. Na zona urbana, foi identificado um *cluster* com risco mais elevado em uma área periférica. Os dados obtidos demonstram a distribuição da LVC por todo o município, porém apresentando áreas com maiores concentrações, sendo sugerida a realização de medidas de controle que as priorizem, de acordo com os fatores de risco encontrados.

Palavras-chave: calazar. distribuição espacial. doença negligenciada. sorologia.

ABSTRACT

Visceral leishmaniasis (VL) is a zoonosis of great importance for Public Health and endemic in several regions of Brazil; the presence of disease in dogs usually precedes human cases. Chapter I of this present study aimed to estimate the prevalence of canine visceral leishmaniasis (CVL) in municipalities of Umbuzeiro microregion, Agreste Paraibano, and to identify the risk factors associated with its occurrence. A total of 540 blood samples were collected from dogs from urban and rural areas of the municipalities. The prevalence of VL was determined using ELISA/S7[®], DPP[®] and EIE-LVC[®] serological techniques. Risk factors were determined through univariate and multivariate statistical analyzes. The prevalence found in the microregion was 12.8%. The prevalence per municipality was 10% in Aroeiras, 11% in Umbuzeiro, 18.8% in Gado Bravo and 13.8% in Natuba. The risk factors for the microregion were: living in rural areas (Odds Ratio = 2,280) and equines contact (Odds Ratio = 4,326), while commercial ration associated with homemade food was presented as a protection factor (Odds Ratio = 0.404). It was observed that dogs that have contact with other dogs (Odds Ratio = 7,888), dogs over 6 years old (Odds Ratio = 2,122) and females (Odds Ratio = 3,171) are more likely to contract the disease in the municipalities of Umbuzeiro, Natuba and Gado Bravo, respectively, and to feed with commercial ration associated to the homemade food was a factor of protection in Aroeiras (Odds Ratio = 0,309). By cytology, amastigote forms were observed only in the spleen smear in 20% of the evaluated animals. The presence of CVL widely distributed in the studied municipalities and risk factors for the infection demonstrate the need for more adequate control measures for the region. The purpose of Chapter II was to estimate the prevalence of CVL in the municipality of São José de Espinharas, semiarid of Paraíba State, to identify the risk factors and observe the spatial distribution pattern. A total of 223 blood samples were collected from dogs from urban and rural areas of the city. The prevalence of CVL was determined using ELISA/S7[®] and DPP[®] serological techniques. Risk factors were determined using univariate and multivariate statistical analyzes. The spatial analysis was performed in the QGIS, SatScan and Google Earth programs using the coordinates obtained by GPS (Global Position System) receiver. The prevalence found in the municipality was 8.5%. In rural areas, contact with small ruminants was identified as a risk factor for infection (Odds Ratio = 4,621). CVL cases have focused on areas with deforestation of local vegetation in rural and urban areas. In the urban area, a cluster with higher risk was identified in a peripheral area. The data obtained demonstrate the distribution of CVL throughout the municipality, but presenting areas with higher concentrations, and it is suggested to carry out control measures that prioritize them according to the risk factors found.

Key-words: calazar. neglected disease. serology. spatial distribution.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

	Páginas
Figura 1. Mapa temático indicando a localização dos municípios da Paraíba estudados, 2017.....	39
Figura 2. Seta: formas amastigotas de <i>Leishmania infantum</i> em citoplasma de macrófago no Baço. A: Objetiva de 40X. B: Objetiva de 100X, 2017.....	40

CAPÍTULO II

	Páginas
Figura 1. Mapa temático da localização do município de São José de Espinharas na Paraíba, 2018.....	59
Figura 2. Mapa de calor com demonstração dos agrupamentos e distribuição dos casos de leishmaniose visceral canina no município de São José de Espinharas/PB. A: Zona urbana; B: Zona rural, 2018.....	60
Figura 3. Mapa da distribuição dos casos de leishmaniose visceral canina na zona urbana de São José de Espinharas/PB e localização do <i>cluster</i> em área periférica, 2018.	61
Figura 4. Imagem de satélite demonstra a perda de vegetação nativa nas periferias da zona urbana de São José de Espinharas/PB. A: Imagem de 2011; B: Imagem de 2018. Fonte: Google Earth (2018).....	62

LISTA DE QUADROS

CAPÍTULO I

	Páginas
Quadro 1. Prevalência da leishmaniose visceral canina nos municípios estudados, 2017. 33	
Quadro 2. Variáveis selecionadas na análise univariada dos possíveis fatores de risco associados à leishmaniose visceral canina na microrregião de Umbuzeiro, Agreste Paraibano, 2017. 34	
Quadro 3. Fatores de risco associados à leishmaniose visceral canina na microrregião de Umbuzeiro, Agreste Paraibano, estimados por regressão logística múltipla, 2017..... 37	
Quadro 4. Fatores de risco associados à leishmaniose visceral canina por município estudado, estimados por regressão logística múltipla, 2017..... 38	

CAPÍTULO II

	Páginas
Quadro 1. Análise univariada dos possíveis fatores de risco associados à leishmaniose visceral canina nas zonas urbana e rural de São José de Espinharas/PB, 2017.. 56	

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BA	Bahia
BiolMol	Laboratório de Biologia Molecular do Semiárido
CSTR/UFCG	Centro de Saúde e Tecnologia Rural/Universidade Federal de Campina Grande
DPP	Dual Path Plataforma
EIE	Ensaio Imunoenzimático
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
GPS	Global Position System
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC	Intervalo de confiança
IDH	Índice de desenvolvimento humano
IFN- γ	Interferon-gama
IM	Intramuscular
IV	Intravenosa
LACEN	Laboratório Central de Saúde Pública
<i>L. chagasi</i>	<i>Leishmania chagasi</i>
<i>L. infantum</i>	<i>Leishmania infantum</i>
LV	Leishmaniose visceral
LVC	Leishmaniose visceral canina
MG	Minas Gerais
PB	Paraíba
PE	Pernambuco
RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
RJ	Rio de Janeiro
RN	Rio Grande do Norte
rpm	Rotação por minuto
SIG	Sistemas de Informações Geográficas
Sinan	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
sp.	Espécie
spp.	Várias espécies
SRD	Sem raça definida

LISTA DE SÍMBOLOS

\leq	Menor ou igual
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
=	Igualdade
%	Porcentagem
mg/Kg	Miligrama por quilograma
mL/Kg	Mililitro por quilograma
Km ²	Quilômetro quadrado
mL	Mililitro
mm	Milímetro

1 INTRODUÇÃO GERAL

A leishmaniose visceral (LV) é uma enfermidade de caráter zoonótico que tem como agente causador o protozoário *Leishmania infantum* (sinônimo *L. chagasi*) e acomete o sistema fagocítico mononuclear de humanos, canídeos e outros mamíferos. A principal forma de transmissão da doença é através do repasto sanguíneo de insetos flebotômicos infectados, sendo a espécie *Lutzomyia longipalpis* considerada a principal transmissora no Brasil (MONTEIRO et al., 2005; BRASIL, 2014, WHO, 2017).

O cão é considerado um importante elo na cadeia de transmissão da LV e tem sido encontrado infectado em focos da doença humana (MELO, 2004; URSINE et al., 2016). A região Nordeste do Brasil apresenta a mais alta prevalência de leishmaniose visceral canina (LVC) (AMÓRA et al., 2004; ABREU-SILVA et al., 2008; SILVA et al., 2017) e alguns fatores relacionados aos cães, como o contato com outros animais, tipo de criação, raça, sexo e idade, são relevantes para a compreensão e controle da LVC pois podem estar associados ao surgimento da doença e ter impacto sobre sua prevalência (BELO et al., 2013).

A leishmaniose visceral, antes restrita às áreas rurais, encontra-se em um processo de expansão e urbanização no Brasil (BRASIL, 2014; WERNECK, 2014), representando um importante problema de Saúde Pública, apesar dos esforços para seu controle por parte das esferas de governo. Esse processo está associado a vários fatores, como pobreza, deslocamento de cães e outros mamíferos provenientes de regiões endêmicas, condições em que habitam os cães e seus tutores, transformações ambientais associadas ao processo de urbanização e alterações climáticas que interferem no ciclo da *Leishmania* sp. (WHO, 2017).

As medidas de controle preconizadas pelo Ministério da Saúde, no Brasil, são o diagnóstico e tratamento precoce de casos humanos, controle dos vetores com uso de inseticidas nas áreas com casos humanos, educação em saúde da população e a detecção dos cães infectados, com posterior eutanásia dos animais positivos (BRASIL, 2014).

Entretanto, essas medidas não têm se demonstrado eficientes para conter a expansão da doença no país. Visto que as condições de transmissão da LV dependem, principalmente, de fatores locais, a escolha das medidas de controle devem ser baseadas no conhecimento de parâmetros epidemiológicos do local avaliado e, nesse contexto, o ambiente desempenha um importante papel na dinâmica de transmissão da doença (MARCONDES; ROSSI, 2013; WERNECK, 2014).

A avaliação da distribuição espacial de casos de LV tem sido realizada em diversos estudos epidemiológicos da doença (SILVA et al., 2011; MAIA et al., 2014). Através do

geoprocessamento, é possível caracterizar e quantificar os agravos à saúde e seus possíveis determinantes, possibilitando o mapeamento de áreas onde os casos ocorrem. A análise da distribuição de um determinado agravo pode, assim, contribuir para um maior reconhecimento da realidade local, apontando os problemas do território e auxiliando na tomada de decisões referentes à situação de saúde observada, o que promove melhorias na eficiência do uso de recursos públicos (BRASIL, 2006; PAVARINI et al., 2008; RIBEIRO et al., 2014).

Tendo em vista a importância dos cães na cadeia de transmissão da LV, a vigilância epidemiológica da leishmaniose na população canina deve ser permanente. O potencial de urbanização e expansão da LV e as ações insuficientes de controle conduzidas pela Vigilância Epidemiológica dos estados apontam para a necessidade de pesquisas que realizem o diagnóstico e identifiquem medidas que contribuam para tomada de decisões mais adequadas no controle dessa zoonose.

A presente dissertação, composta por dois capítulos, objetivou avaliar a situação epidemiológica da LVC em municípios da Paraíba, com vistas em melhorias nas ações em Saúde Pública. No Capítulo I, foram avaliados a prevalência e fatores de risco associados à LVC em municípios do agreste paraibano e, no Capítulo II, além desses parâmetros, foi também avaliada a distribuição espacial da doença no município de São José de Espinharas no Sertão Paraibano.

REFERÊNCIAS

ABREU-SILVA, A. L.; LIMA, T. B.; MACEDO, A. A.; MORAES-JÚNIOR, F. J.; DIAS, E. L.; BATISTA, Z. S.; CALABRESE, K. S.; MORAES, J. L. P.; REBÊLO, J. M. M.; GUERRA, R. M. S. N. C. Soroprevalência, aspectos clínicos e bioquímicos da infecção por *Leishmania* em cães naturalmente infectados e fauna de flebotomíneos em uma área endêmica na ilha de São Luís, Maranhão, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, p. 197-203, 2008.

AMÓRA, S. S. A.; SANTOS, M. J.; SARAIVA, J. C.; FEIJÓ, F. M. C.; FILGUEIRA, K. D.; REGO, R. O.; ALVES, N. D. Detecção de anticorpos anti-*Leishmania chagasi* em cães da área rural do município de Mossoró, Rio Grande do Norte. **Ciência Animal Brasileira**, v. 5, p. 166-168, 2004.

BELO, V. S.; STRUCHINERA, C. J.; WERNECKA, G. L.; BARBOSA, D. S.; OLIVEIRA, R. B.; NETO, R. G. T.; SILVA, E. S. A systematic review and meta-analysis of the factors associated with *Leishmania infantum* infection in dogs in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 195, p. 1-13, 2013.

BRASIL. **Abordagens espaciais na Saúde Pública: Capacitação e atualização em geoprocessamento em saúde**. Brasília, 139p. 2006.

BRASIL. 2014. Ministério da Saúde. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. 1th ed. Brasília (DF): **Ministério da Saúde**. 120 p.

MAIA, C. S.; PIMENTEL, D. S.; SANTANA, M. A.; OLIVEIRA, G. M.; PEDROSA, N. A.; NASCIMENTO, L. A.; FAUSTINO, M. A. G.; ALVES, L. C. Análise espacial da leishmaniose visceral americana no município de Petrolina, Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**, v. 10, n. 18, p. 167-176, 2014.

MARCONDES, M.; ROSSI, C. N. Leishmaniose visceral no Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 50, n. 5, p. 341-352, 2013.

MELO, M. N. **Leishmaniose visceral no Brasil: desafios e perspectivas**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 13., 2004, Ouro Preto: MG, 2004.

MONTEIRO, E. M.; SILVA, J. C. F.; COSTA, R. T.; COSTA, D. C.; BARATA, R. A.; PAULA, E. V.; MACHADO-COELHO, G. L. L.; ROCHA, M. F.; FORTES-DIAS, C. L.; DIAS, E. S. Leishmaniose visceral: estudo de flebotomíneos e infecção canina em Montes Claros, Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, p. 147-152, 2005.

PAVARINI, S. C.; MENDIONDO, E. M.; MONTAÑO, M.; ALMEIDA, D. M. F.; MENDIONDO, M. S. Z.; BARHAM, E. J.; PEDRAZZANI, E. S. Sistema de informações geográficas para a gestão de programas municipais de cuidado a idosos. **Texto Contexto Enfermagem**, v. 17, n. 1, p. 17-25, 2008.

RIBEIRO, M. A.; ALBUQUERQUE, I. M. N.; PAIVA, G. M.; VASCONCELOS, J. P. C.; ARAÚJO, M. A. V. F.; VASCONCELOS, M. I. O. Georreferenciamento: ferramenta de análise do sistema de saúde de sobral - Ceará. **SANARE**, v. 13, n. 2, p. 63-69, 2014.

SILVA, A. V. M.; MAGALHÃES, M. A. F. M.; BRAZIL, R. P. ; CARREIRA, J. C. A. Ecological study and risk mapping of leishmaniasis in an endemic area of Brazil based on a geographical information systems approach. **Geospatial Health**, v. 6, n. 1, p. 33-40, 2011.

SILVA, J. D.; MELO, D. H. M.; COSTA, J. A. G.; COSTA, D. F.; SILVA, R. B. S.; MELO, M. A.; AZEVEDO, S. S.; ALVES, C. J. Leishmaniose visceral em cães de assentamentos rurais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 11, p. 1292-1298, 2017.

URSINE, R. L.; DIAS, J. V. L.; MORAIS, H. A.; PIRES, H. H. R. Human and canine visceral leishmaniasis in an emerging focus in Araçuaí, Minas Gerais: spatial distribution and socio-environmental factors. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 111, n. 8, p. 505-511, 2016.

WERNECK, G. L. Visceral leishmaniasis in Brazil: rationale and concerns related to reservoir control. **Revista Saúde Pública**, v. 48, n. 5, p. 851-855, 2014.

WHO. **Leishmaniasis**. World Health Organization, Geneva, 2017.

<<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>> Acesso em 13 nov. 2017.

**2 CAPITULO I: AVALIAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA LEISHMANIOSE
VISCERAL CANINA EM MICRORREGIÃO DO AGRESTE PARAIBANO, BRASIL**

Manuscrito submetido à Revista Pesquisa
Veterinária Brasileira (ISSN: 0100-736X) -
Seropédica/RJ, Qualis A2.

Avaliação epidemiológica da leishmaniose visceral canina em microrregião do Agreste Paraibano, Brasil¹

Laysa F.F. Silva^{2*}, Nedja F.S. Pinto³, Raizza B.S. Silva², Roberta S.B. Gomes³,
Ana L.P.S. Silva³, Pedro P.S. Coelho⁴, Denny P.S.B.M. Leite⁴, Marcia A. Melo²

ABSTRACT.- Silva L.F.F., Pinto N.F.S., Silva R.B.S., Gomes R.S.B., Silva A.L.P.S., Coelho P.P.S., Leite D.P.S.B.M., Melo M.A. 2017. [Epidemiological evaluation of canine visceral leishmaniasis in a microregion of Agreste Paraibano, Brazil] Avaliação epidemiológica da leishmaniose visceral canina em microrregião do Agreste Paraibano, Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, Av. Universitária, s/n. Bairro Sta. Cecília, Patos, PB 58708-110, Brasil. E-mail: laysafrfranco@gmail.com

Visceral leishmaniasis (VL) is a parasitic zoonosis of importance for Public Health caused by *Leishmania infantum*. Brazilian Northeast region has a high prevalence for the disease. In Paraíba State, little is known about the prevalence of canine visceral leishmaniasis (CVL) in municipalities and what risk factors are associated with infection. The aim of this research was to estimate the prevalence of CVL in municipalities of Umbuzeiro microregion, Agreste Paraibano, and to identify the risk factors related to its occurrence. In 2015 and 2016, 540 blood samples were collected from dogs from urban (293) and rural (247) areas from the municipalities of Aroeiras, Gado Bravo, Natuba and Umbuzeiro. The prevalence of CVL was determined using the serological techniques ELISA/S7[®] (Biogene), DPP[®] (Bio-Manguinhos) and EIE-LVC[®] (Bio-Manguinhos), considering positives samples that reacted with DPP and, at least, one of the enzyme-linked immunosorbent assays. Risk factors were determined by univariate and multivariate statistical analyzes. The prevalence of anti-*L. infantum* antibodies in the studied microregion was 12.8%, being lower in the urban area (8.2%) than in the rural

¹ Recebido em.....

Aceito para publicação em.....

² Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (PPGMV), Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Patos, Av. Universitária s/n, Bairro Santa Cecília, Patos, PB 58708-110, Brasil. E-mails: raizzabss@hotmail.com, marcia.melo@pq.cnpq.br. *Autor para correspondência: laysafrfranco@gmail.com.

³ Médica Veterinária Autônoma. E-mails: nedjafernanda@gmail.com, robertamedvet20@gmail.com, analuzapiresvet@icloud.com.

⁴ Curso de Graduação em Medicina veterinária, UFCG, Campus de Patos, PB, Brasil. E-mails: pedro_paulo747@hotmail.com, dennyparente@hotmail.com.

area (18.2%). The prevalence per municipality was 10% in Aroeiras, 11% in Umbuzeiro, 18.8% in Gado Bravo and 13.8% in Natuba. The risk factors found for the microregion were rural area (Odds Ratio = 2,280) and equines contact (Odds Ratio = 4,326), while the commercial ration associated with homemade food was found as a protection factor (Odds Ratio = 0.404). Evaluating the risk factors for each municipality, it was observed that dogs that have contact with other dogs (Odds Ratio = 7,888), dogs over 6 years of age (Odds Ratio = 2,122) and females (Odds Ratio = 3,171) are more likely to contract the disease in the municipalities of Umbuzeiro, Natuba and Gado Bravo, respectively, and feed with commercial ration associated with homemade food was a protective factor in the municipality of Aroeiras (Odds Ratio = 0.309). By cytology, amastigote forms were observed only in the spleen smears in 20% of the evaluated animals. The presence of CVL widely distributed in the studied municipalities and the presence of risk factors for infection demonstrate the need for more adequate control measures for the region.

INDEX TERMS: neglected disease, zoonosis, risk factors, Paraíba.

RESUMO.- A leishmaniose visceral (LV) é uma zoonose parasitária de importância para a Saúde Pública causada pela *Leishmania infantum*. A região Nordeste do Brasil apresenta alta prevalência para a doença. Na Paraíba, pouco se sabe sobre a prevalência da leishmaniose visceral canina (LVC) nos municípios e quais os fatores de risco associados à infecção. O objetivo desta pesquisa foi estimar a prevalência da LVC em municípios da microrregião de Umbuzeiro, Agreste Paraibano, e identificar os fatores de risco relacionados à sua ocorrência. Nos anos de 2015 e 2016, coletou-se 540 amostras de sangue de cães da zona urbana (293) e rural (247) dos municípios de Aroeiras, Gado Bravo, Natuba e Umbuzeiro. A prevalência de LVC foi determinada através das técnicas sorológicas ELISA/S7[®] (Biogene), DPP[®] (Bio-Manguinhos) e EIE-LVC[®] (Bio-Manguinhos), considerando positivas as amostras que reagiram no DPP e em, pelo menos, um dos testes imunoenzimáticos. Os fatores de risco foram determinados por meio das análises estatísticas uni e multivariada. A prevalência de anticorpos anti-*L. infantum* na microrregião estudada foi de 12,8%, sendo menor na zona urbana (8,2%) do que na rural (18,2%). A prevalência por município foi de 10% em Aroeiras, 11% em Umbuzeiro, 18,8% em Gado Bravo e 13,8% em Natuba. Os fatores de risco encontrados para a microrregião foram a zona rural (Odds Ratio = 2,280) e contato com equídeos (Odds Ratio = 4,326), enquanto que a alimentação com ração comercial associada à comida caseira se apresentou como um fator de proteção (Odds Ratio = 0,404). Avaliando-se

os fatores de risco para cada município, observou-se que os cães que possuem contato com outros cães (*Odds Ratio* = 7,888), cães com mais de seis anos de idade (*Odds Ratio* = 2,122) e fêmeas (*Odds Ratio* = 3,171) possuem mais chances de contrair a doença nos municípios de Umbuzeiro, Natuba e Gado Bravo, respectivamente, e a alimentação com ração comercial associada à comida caseira foi um fator de proteção no município de Aroeiras (*Odds Ratio* = 0,309). Através da citologia, observaram-se formas amastigotas apenas nas lâminas de baço em 20% dos animais avaliados. A presença de LVC amplamente distribuída nos municípios estudados e a de fatores de risco para a infecção demonstram a necessidade de medidas de controle mais adequadas para a região.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: doença negligenciada, zoonose, fatores de risco, Paraíba.

INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral (LV) é uma doença tropical negligenciada, de caráter zoonótico, causada pelo protozoário *Leishmania infantum* (sinônimo *L. chagasi*). No Brasil, o principal agente transmissor é o flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis* (Who 2017).

As estratégias de controle dessa zoonose estão baseadas no diagnóstico e tratamento precoce de casos humanos, controle dos vetores com uso de inseticidas nas proximidades de áreas com presença de casos humanos, educação em saúde da população e na detecção dos cães infectados por meio de testes sorológicos, com posterior eutanásia dos animais positivos (Brasil 2014), visto que o cão é uma fonte de alimento para o flebotomíneo e a infecção canina costuma preceder os casos humanos em áreas urbanas endêmicas (Bevilacqua et al. 2001, Afonso et al. 2012), além disso os medicamentos utilizados hoje em dia não eliminam por completo a infecção.

Apesar dos esforços para seu controle por parte das esferas de governo, é consenso que na última década houve um aumento da prevalência da infecção tanto em cães como em humanos. Na Paraíba, foram registrados 47 casos de LV em humanos apenas no ano de 2015, segundo dados do Sinan Net (Brasil 2017).

A LV é caracterizada por uma alta estimulação de linfócitos B, que resulta em grande produção de anticorpos, facilitando o diagnóstico através de testes sorológicos e evitando os métodos parasitológicos que, ainda que mais específicos, são mais invasivos e menos sensíveis (Gontijo & Melo 2004). Para aperfeiçoar a técnica de diagnóstico da leishmaniose visceral canina (LVC), o Ministério da Saúde substituiu o ensaio imunoenzimático, que era utilizado como triagem, pelo teste rápido imunocromatográfico que utiliza antígenos

recombinantes (k26 e k39); e a imunofluorescência indireta pelo ensaio imunoenzimático, para confirmação do diagnóstico, todos produzidos pela Bio-Manguinhos (Brasil 2011).

O estudo da prevalência da infecção canina aponta ações necessárias ao controle da endemia às agências e órgãos de controle locais. Na região Nordeste, foram relatados valores de prevalência em cães entre 0,7% e 55% (Amóra et al. 2004, Barboza et al. 2009) e, em estudos realizados em diferentes cidades da Paraíba, esses valores variam entre 3,4% e 18% (Brito et al. 2016, Fernandes et al. 2016, Silva et al. 2016). Os resultados obtidos dependem do local estudado, da amostragem utilizada e método diagnóstico empregado nas diferentes pesquisas. Alguns fatores, como o contato com animais, tipo de criação, raça, sexo e idade dos cães, podem estar associados ao surgimento da doença e ter impacto sobre sua prevalência, apresentando-se relevantes para compreensão e controle da LVC (Belo et al. 2013).

Diante disto, o presente estudo teve como objetivo estimar a soroprevalência e identificar os fatores de risco associados à LVC na microrregião de Umbuzeiro, Agreste Paraibano.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), sob o protocolo nº 083/2016.

O estudo foi realizado nas zonas urbana e rural dos municípios paraibanos: Aroeiras, Gado Bravo, Natuba e Umbuzeiro, pertencentes à microrregião de Umbuzeiro, Agreste Paraibano (Figura 1). O tamanho amostral foi determinado através da fórmula para amostras simples aleatórias, com base numa prevalência esperada de 50% (a fim de maximizar a amostragem), nível de confiança de 95% e um erro amostral de 10% (Thrusfield 2007), o que resultou em uma população amostral de, pelo menos, 96 cães por município.

Foram coletadas amostras de sangue de cães acima de seis meses de idade e sem distinção de raça ou sexo, entre fevereiro de 2015 e dezembro de 2016, com o apoio da Secretaria de Vigilância em Saúde dos municípios. A abordagem realizada junto às residências na zona rural foi vinculada à presença de cães. Na zona urbana, por sua vez, foram organizados pontos de coleta, incluindo diferentes bairros, com localizações distintas, visando abranger a maior área possível.

O sangue foi obtido por venopunção cefálica ou jugular, em um total de 5mL, com o auxílio de seringa de 5mL e agulhas 25 X 8mm, estéreis e de uso individual. O sangue foi imediatamente depositado em tubo contendo citrato de sódio a 4%. Após a coleta, o material

foi encaminhado ao Laboratório de Biologia Molecular do Semiárido (BiolMol/UFCG), Campus Patos-PB. As amostras foram centrifugadas em 2000rpm durante 5 minutos para separação do plasma, que foi armazenado em microtubos de 1,5mL, identificado e estocado a -20°C até a realização dos ensaios sorológicos.

Os testes sorológicos utilizados para o diagnóstico de infecção por *Leishmania infantum* nos cães foram Kit ELISA/S7[®] (Biogene), teste rápido DPP[®] (Bio-Manguinhos), realizados no BiolMol/UFCG, e o ensaio imunoenzimático (Kit EIE-LVC, Bio-Manguinhos), realizado pelo Laboratório Central de Saúde Pública da Paraíba (LACEN), em João Pessoa-PB, apenas nas amostras que reagiram no DPP[®]. Todos os ensaios foram realizados seguindo os protocolos dos fabricantes.

Para determinar a prevalência da LVC, foram consideradas positivas as amostras que reagiram no DPP e em, pelo menos, um dos testes imunoenzimáticos. Porém, para realização da eutanásia dos cães só foram considerados os resultados dos testes preconizados pelo Ministério da Saúde (DPP e EIE) e com a autorização do tutor.

A eutanásia foi realizada por meio de sedação com xilazina 2% (1mg/Kg, IM) e indução anestésica com propofol 1% (IV) em sistema dose-efeito até atingir o segundo plano do terceiro estágio anestésico, como descrito por Guedel (1921) e, após o desaparecimento dos reflexos, foi administrada solução de Cloreto de Potássio a 10% (1mL/Kg, IV), proporcionando uma eutanásia rápida por fibrilação ventricular cardíaca.

Durante a necropsia, foi coletado material biológico para avaliação citológica realizada por *imprint* de baço e fígado e por aspirado de linfonodo e medula óssea, que foi colocado em lâmina de vidro e espalhado sobre esta com auxílio de outra lâmina, a fim de se obter uma camada celular fina. Foram confeccionadas quatro lâminas por animal, uma de cada órgão coletado, que foram coradas com panótico rápido e analisadas em microscópio óptico nas objetivas de 40 e 100X, utilizando óleo de imersão, quando necessário.

No momento da coleta de sangue, os tutores dos cães responderam a um questionário epidemiológico com o intuito de verificar fatores socioambientais que atuam como possíveis fatores de risco para a LVC. As variáveis investigadas relacionadas ao tutor foram: grau de escolaridade e renda familiar; e ao cão foram: município, zona, sexo; idade; raça; tipo de criação; alimentação; contato com outros animais; com quais tem contato (equídeos, silvestres, felinos, cães, suínos, pequenos ruminantes, bovinos e aves); ambiente onde é criado; limpeza do local; frequência de limpeza; vermifugação; vacinação; presença de carrapatos; cão de caça; adotado (ANEXO A).

A análise dos fatores de risco associados à soropositividade foi efetuada em duas etapas, análise univariada e análise multivariada. As variáveis independentes foram categorizadas e codificadas de acordo com Latorre (2004). As variáveis que apresentaram um valor de $p \leq 0,20$, pelo teste de qui-quadrado ou teste exato de Fisher (Zar 1999), foram usadas na análise multivariada através de regressão logística múltipla (Hosmer & Lemesho 2000). O nível de significância adotado na análise múltipla foi de 5%. As análises foram realizadas com o programa SPSS 22.0 for Windows.

RESULTADOS

Foram coletadas 540 amostras de sangue de cães da microrregião de Umbuzeiro, 293 eram da zona urbana e 247 da zona rural. A soroprevalência encontrada para LVC na microrregião foi de 12,8% (69/540, IC 95% 10,2-15,8%), com prevalências de 8,2% (24/293) e 18,2% (45/247) na zona urbana e rural, respectivamente. As prevalências observadas para cada município são apresentadas no Quadro 1.

Através do ELISA/S7[®], foram identificadas 130 (24%) amostras positivas, e 135 (25%) foram reagentes no teste rápido DPP[®]. As amostras que reagiram ao DPP foram enviadas para o LACEN, onde 49 (36,3%) amostras positivas foram confirmadas, sendo recomendada, segundo a portaria interministerial 1.426/2008, a eutanásia dos animais positivos.

Devido às dificuldades enfrentadas no recolhimento dos animais positivos, seja pela negação dos tutores para realização da eutanásia dos cães ou por muitos já terem ido a óbito (por causas diversas) no momento do recolhimento, apenas 10 cães, oriundos dos diferentes municípios avaliados, foram recolhidos para realização do procedimento de eutanásia, após autorização dos tutores, com coleta de material pós-morte para realização do parasitológico direto.

Na citologia, foi avaliado um total de 40 lâminas pertencentes aos 10 animais sacrificados. Destes, dois eram oligossintomáticos (um cão de Gado Bravo e um de Umbuzeiro), seis sintomáticos (três de Aroeiras, dois de Gado Bravo e um de Umbuzeiro) e dois (um cão de Gado Bravo e um de Natuba) não apresentavam nenhum sinal clínico sugestivo de LV. Esta técnica apresentou baixa sensibilidade, com visualização de formas amastigotas de *L. infantum* apenas nas lâminas de baço em dois dos dez animais estudados (20%) (Figura 2). Nos demais órgãos, não foi observada a presença do parasito.

Em relação à população canina, 62% (335/540) eram machos, 25,6% (138/540) possuíam entre dois e quatro anos e 70,4% (380/540) recebiam comida caseira como

alimento. O contato dos cães com outros animais (cães, gatos, equinos, ruminantes, aves e/ou animais silvestres) foi relatado por 86,7% (468/540) dos tutores e 91,3% (63/69) dos cães positivos mantinham algum tipo de contato com outros animais.

As variáveis associadas à LVC, na microrregião de Umbuzeiro, selecionadas na análise univariada, foram: escolaridade e renda do tutor, cidade em que o animal reside, zona, raça, idade, tipo de criação, alimentação, contato com equídeos, caninos, aves e animais silvestres, ambiente onde o animal era abrigado, limpeza e frequência de limpeza do ambiente, vacinação, presença de carrapatos e se animal sempre pertenceu ao dono ou foi adotado (Quadro 2).

Os fatores de risco para LVC na microrregião, identificados na análise multivariada por regressão logística múltipla, foram: Zona rural (*Odds Ratio* = 2,280) e contato com equídeos (*Odds Ratio* = 4,326) (Quadro 3). Já o fornecimento de ração associada à comida caseira como fonte de alimento se apresentou como fator de proteção para o surgimento da doença nos animais na microrregião de Umbuzeiro, havendo diminuição do risco de infecção na população que recebe esse tipo de alimentação de 59,6% (*Odds Ratio* = 0,404).

A análise dos fatores de risco foi realizada para cada município, de forma individualizada. Observou-se que, em Gado Bravo, Natuba e Umbuzeiro, os fatores identificados foram, respectivamente: fêmeas (*Odds Ratio* = 3,171), animais acima de seis anos de idade (*Odds Ratio* = 2,122) e o contato com outros cães (*Odds Ratio* = 7,888) (Quadro 4), enquanto o fornecimento de ração associada à comida caseira como fonte de alimento foi um fator de proteção para o surgimento da doença nos animais do município de Aroeiras, com diminuição do risco de infecção de 69,1% (*Odds Ratio* = 0,309) na população que recebe esse tipo de alimentação.

DISCUSSÃO

O estudo da prevalência da infecção canina norteia as agências e órgãos de controle locais sobre ações necessárias ao controle da endemia, visto que a doença canina é um importante indicativo de risco para surgimento da doença humana (Teixeira-Neto et al. 2014, Ursine et al. 2016). A região Nordeste possui uma alta prevalência para LVC e apresenta os maiores percentuais da doença humana no Brasil (Amóra et al. 2004, Brasil 2014).

Diferenças em prevalências são observadas em toda região nordeste, com relatos que variam de 0,7 % a 55% (Amóra et al. 2004, Barboza et al. 2009, Silva et al. 2010, Barbosa et al. 2015, Pimentel et al. 2015). Esses resultados variam em função das características da

população, das condições socioambientais e da metodologia empregada na avaliação (Azevedo et al. 2008).

Levantamentos soropidemiológicos realizados em Campina Grande, na Paraíba, entre 2011 e 2014, observaram prevalências de 3,6% e 4,3%, respectivamente (Brito et al. 2016, Fernandes et al. 2016). Entretanto, prevalências mais elevadas são relatadas em outros municípios no mesmo estado, tais como Patos (entre 11,3 e 18,4%) e Sousa (7,2%) localizados no semiárido (Fernandes et al. 2016, Silva et al. 2016). Esses resultados se assemelham aos encontrados no presente estudo e são esperados, visto que são regiões com semelhantes características fisiográficas e onde não têm sido realizadas medidas de controle por parte do sistema de saúde estadual.

Na avaliação citológica, apesar da maioria dos animais apresentar ao menos um sinal clínico sugestivo de LVC, o que poderia aumentar as chances de observação de amastigotas na avaliação parasitológica (Assis et al. 2010), a sensibilidade da técnica foi baixa.

Magalhães et al. (2012), avaliando *imprints* de baço e linfonodo poplíteo, relataram positividade em 38,2% dos animais, com observação do parasito em pelo menos um dos órgãos avaliados, sendo que nove (26,5%) foram positivos tanto nas amostras de linfonodo como nas de baço e quatro (11,8%) apresentaram formas amastigotas apenas nos *imprints* esplênicos. Segundo Laurenti (2009), a confirmação do diagnóstico por métodos parasitológicos pode ser difícil, uma vez que a especificidade é de 100% e os parasitos não são uniformemente distribuídos pelos tecidos, ocorrendo variação na sensibilidade dependente do grau do parasitismo, do tipo de material biológico coletado e do seu processamento.

Em relação aos fatores de risco associados à infecção, corroborando os resultados do presente estudo, Almeida et al. (2012) relataram um risco 1,9 vezes maior para a aquisição da doença em animais que vivem em ambientes rurais. De maneira geral, a ocorrência da doença na zona rural é maior do que na zona urbana. Regiões de mata e com grande quantidade de matéria orgânica favorecem o desenvolvimento e proliferação do vetor, facilitando a infecção canina (Amóra et al. 2006, Rondon et al. 2008, Barbosa et al. 2010)

A presença de espécies animais nas proximidades das residências pode facilitar a infecção canina, devido à produção de resíduos orgânicos em ambientes úmidos e sombreados e por servirem de fonte alimentar para o vetor, favorecendo a atração e manutenção da população de flebotomíneos no ambiente peridoméstico, permitindo que estes façam repastos sanguíneos em cães e humanos (Moreira et al. 2003, Azevedo et al. 2008, Afonso et al. 2012). Em equinos, a infecção por *L. infantum* é relatada e esta espécie pode atuar como fonte de alimentação para os vetores (Missawa et al. 2008, Feitosa et al. 2012).

No Brasil, foi constatado que moradores com cães em suas residências apresentaram mais chances de contraírem a doença do que quando comparados a indivíduos que não possuíam animais (Borges et al. 2009) e o contato com outros cães também facilita a manutenção da infecção entre a espécie (Amóra et al. 2006).

De forma semelhante ao observado neste estudo, a associação entre positividade e o avanço da idade dos cães foi relatada por outros autores, tendo sido maior para cães com idade acima de 7 anos em relação aos animais mais jovens (Azevedo et al. 2008, Maziero et al. 2014). Cães mais velhos tem um período maior em risco de exposição ao agravo, além de diminuição na imunidade, o que aumenta as chances de adquirir a doença (Maziero et al. 2014). Contrariamente, Dantas-Torres et al. (2006) observaram que cães jovens apresentam maior risco de infecção por *L. infantum* e França-Silva et al. (2003) não constataram correlação entre a prevalência de infecção e a idade dos cães, embora a maior porcentagem dos cães positivos tivesse entre seis e sete anos.

Esta variação de resultados relacionados apenas à faixa etária mais susceptível, provavelmente, reflete o papel epidemiológico circunstancial que esta variável desempenha, sendo necessário considerar os fatores socioeconômicos e culturais que podem influenciar no modo de vida destes animais (Rondon et al. 2008). A epidemiologia da LVC varia muito entre as diferentes regiões, em virtude de ambientes e hábitos distintos da população canina, interferindo no risco de exposição dos animais aos vetores (Dantas-Torres 2009).

Existem divergências em relação a influência do sexo na ocorrência de LV. Dantas-Torres et al. (2006) e Silva et al. (2016) verificaram maior risco de infecção em cães machos, já Almeida et al. (2012) não evidenciaram predisposição sexual, racial ou etária relacionada com a infecção.

Algumas pesquisas relatam maior prevalência em fêmeas, não havendo diferença estatisticamente significativa (Almeida et al. 2010, Brito et al. 2016). Enquanto Amóra et al. (2006) observaram que as cadelas provenientes do meio rural foram estatisticamente mais soropositivas que os machos, assim como Silva et al. (2017) que identificaram um maior risco de infecção (*Odds Ratio* = 1,97) em fêmeas de assentamentos rurais, corroborando os nossos resultados. Nas fêmeas, alterações imunológicas que ocorrem durante o período de gestação podem influenciar na susceptibilidade à infecção (Vannucchi et al. 2016).

Em nossa pesquisa, foi observado que muitos tutores ofereciam comida caseira associada à ração para seus cães. Animais que recebem um alimento balanceado podem apresentar um melhor estado nutricional, favorecendo a resistência a infecções. Em humanos,

a relação entre o estado nutricional e a ocorrência e evolução de LV já foi relatada, devido ao impacto que esta variável promove na resposta imune (Gatto et al. 2013).

Em camundongos que foram vacinados e desafiados com promastigotas de *L. infantum*, após 4 semanas de infecção, houve um aumento da carga parasitária e redução da produção de IFN- γ nos desnutridos, em relação ao grupo de animais com bom estado nutricional no momento da vacinação (Malafaia et al. 2009) e a ativação de macrófagos por estímulo de IFN- γ , com consequente estimulação da síntese de óxido-nítrico, é o principal mecanismo efetor envolvido na resposta imune protetora contra *Leishmania* spp. (Vouldoukis et al. 1996, Zafra et al. 2008). Nos cães, entretanto, a susceptibilidade à infecção por *L. infantum* devido às condições nutricionais ainda carece de mais investigações (Dantas-Torres 2009).

CONCLUSÕES

A prevalência de LVC foi semelhante à observada em outras áreas endêmicas do Nordeste do Brasil, estando presente nas zonas urbanas e rurais dos municípios. As informações obtidas podem contribuir para o planejamento de estratégias de controle da doença, que devem ser intensificadas na região, com enfoque nos fatores de risco observados. Sugere-se que o município implemente medidas de educação em saúde nas áreas endêmicas, alertando a população sobre o risco da manutenção de animais domésticos, tais como os equídeos, nas proximidades das residências e incentivando à posse responsável de cães aos tutores, com o intuito de restringir as fontes de alimento para o vetor no peridomicílio, evitando o surgimento de casos humanos e caninos.

REFERÊNCIAS

- Afonso M.M.S., Duarte R., Miranda C., Caranha L. & Rangel E.F. 2012. Studies on the Feeding Habits of *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) Populations from Endemic Areas of American Visceral Leishmaniasis in Northeastern Brazil. J. Trop. Med. 2012:1-5.
- Almeida A.B.P.F., Mendonça A.J. & Sousa V.R.F. 2010. Prevalência e epidemiologia da leishmaniose visceral em cães e humanos, na cidade de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. Cienc. Rural. 40(7):1610-1615.
- Almeida A.B.P.F., Sousa V.R.F., Cruz F.A.C.S., Dahroug M.A.A., Figueiredo F.B. & Madeira M.F. 2012. Canine visceral leishmaniasis: seroprevalence and risk factors in Cuiabá, Mato Grosso, Brazil. Revta. Bra. Parasitol. Vet. 21(4):359-365.

- Amóra S.S.A., Santos M.J., Saraiva J.C., Feijó F.M.C., Filgueira K.D., Rego R.O. & Alves N.D. 2004. Detecção de anticorpos anti-*Leishmania chagasi* em cães da área rural do município de Mossoró, Rio Grande do Norte. *Ci. Anim. Bras.* 5:166-168.
- Amóra S.S.A., Santos M.J.P., Alves N.D., Costa S.C.G., Calabrese K.S., Monteiro A.J. & Rocha M.F.G. 2006. Fatores relacionados com a positividade de cães para leishmaniose visceral em área endêmica do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. *Cienc. Rural.* 36(6): 1854-1859.
- Assis J., Queiroz N.M.G.P., Silveira R.C.V., Nunes C.M., Oliveira T.M.F.S., Junior A.C.F.N., Neves M.F., Machado R.Z. & Buzetti W.A.S. 2010. Estudo comparativo dos métodos diagnósticos para Leishmaniose Visceral em cães oriundos de Ilha Solteira, SP. *Revta. Bra. Parasitol. Vet.* 19(1):17-25.
- Azevedo M.A.A., Dias A.K.K., De Paula H.B., Perri S.H.V. & Nunes C.M. 2008. Avaliação da leishmaniose visceral canina em Poxoréo, Estado do Mato Grosso, Brazil. *Revta. Bras. Parasitol. Vet.* 17(3): 123-127.
- Barbosa D.S., Rocha A.L., Santana A.A., Souza C.S.F., Dias R.A., Costa-Junior L.M & Abreu-Silva A.L. 2010. Soroprevalência e variáveis epidemiológicas associadas à leishmaniose visceral canina em área endêmica no município de São Luís, Maranhão, Brasil. *Ci. Anim. Bras.* 11(3):653-659.
- Barbosa I.R., Carlota F.C. & Andrade-Neto V.F. 2015. Seroepidemiological Survey of Canine *Leishmania* Infections from Peripheral Areas in Natal, Northeast Brazil. *Open Microbiol. J.* 9:43-47.
- Barboza D.C.P.M., Leal D.C., Souza B.M.P.S., Carneiro A.J.B., Gomes-Neto C.M.B., Alcântara, A.C., Julião F.S., Moura S.A.B., Peralva L.M.P., Ferreira, F. & Franke, C.R. 2009. Inquérito epidemiológico da leishmaniose visceral canina em três distritos sanitários do município de Salvador, Bahia, Brasil. *Revta Bras Saúde Prod. Anim.* 10(2):434-447.
- Belo V.S., Struchinera C.J., Wernecka G.L., Barbosa D.S., Oliveira R.B., Neto R.G.T. & Silva E.S. 2013. A systematic review and meta-analysis of the factors associated with *Leishmania infantum* infection in dogs in Brazil. *Vet. Parasitol.* 195:1-13.
- Bevilacqua P.D., Paixão H.H., Modena C.M. & Castro M.C.P.S. 2001. Urbanização da leishmaniose visceral em Belo Horizonte. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 53(1).
- Borges B.K.A., Silva J.A., Haddad J.P.A., Moreira E.C., Magalhães D.F., Ribeiro L.M.L & Fiúza V.O.P. 2009. Presença de animais associada ao risco de transmissão da leishmaniose visceral em humanos em Belo Horizonte, Minas Gerais. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 61(5):1035-1043.

- Brasil. 2011. Esclarecimentos sobre substituição do protocolo diagnóstico da leishmaniose visceral canina (LVC). Nota Técnica Conjunta nº 1, Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis/Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis, Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde, Brasília. 3p.
- Brasil. 2014. Ministério da Saúde. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. 1th ed. Brasília (DF): Ministério da Saúde. 120 p.
- Brasil. 2017. Portal da Saúde SUS (Sinan/SVS/MS). Ministério da Saúde, Brasília. Disponível: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sinanet/cnv/leishvbr.def>> Acesso em 15 dez. 2017.
- Brito F.G., Langoni H., Silva R.C., Rotondano T.E.F., Melo M.A. & Paz G.S. 2016. Canine visceral leishmaniasis in the Northeast Region of Brazil. *J. Venom. Anim. Toxins. Incl. Trop. Dis.* 22(15):1-4.
- Dantas-Torres F., Brito M.E & Brandão-Filho S.P. 2006. Seroepidemiological survey on canine leishmaniasis among dogs from an urban area of Brazil. *Vet. Parasitol.* 140:54-60.
- Dantas-Torres, F. 2009. Canine leishmaniasis in South America. *Parasit. Vectors.* 2(1):1-8.
- Feitosa F.L.F., Leal J., Mendes L.C.N., Peiró J.R., Perri S.H.V., Lima V.M.F & Marcondes M. 2012. Estudo soroepidemiológico de leishmaniose em equinos na região de Araçatuba-SP, Brasil, área endêmica para leishmaniose visceral. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 49(6): 500-502.
- Fernandes A.R.F., Pimenta C.L.R.M., Vidal I.F., Oliveira G.C., Sartori R.S., Araujo R.B., Melo M.A., Langoni H. & Azevedo S.S. 2016. Risk factors associated with seropositivity for *Leishmania* spp. and *Trypanosoma cruzi* in dogs in the state of Paraíba, Brazil. *Revta. Bras. Parasitol. Vet.* 25(1):90-98.
- França-Silva J.C., Costa R.T., Siqueira A.M., Machado-Coelho G.L.L., Costa C.A., Mayrink W., Vieira E.P., Costa J.S., Genaro O. & Nascimento E. 2003. Epidemiology of canine visceral leishmaniasis in the endemic área of Montes Claros Municipality, Minas Gerais state, Brazil. *Vet. Parasitol.* 111:161-173.
- Gatto M., Abreu M.M., Tasca K.I., Simão J.C., Fortaleza C.M.C.B., Pereira P. C.M. & Calvi S.A. 2013. Biochemical and nutritional evaluation of patients with visceral leishmaniasis before and after treatment with leishmanicidal drugs. *Revta Soc. Bras. Med. Trop.* 46(6):735-740.
- Gontijo C.M.F. & Melo M.N. 2004. Leishmaniose Visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. *Revta. Bras. Epidemiol.* 7(3):338-349.

- Guedel A.E. 1921. Third stage ether anesthesia: a sub-classification regarding the significance of the position and movements of the eyeball. PA. Med. J. 24(34):375-380.
- Hosmer D.W. & Lemesho W.S. 2000. Applied Logistic Regression. 2 ed. John Wiley and Sons, New York, 375p. Disponível em <http://books.google.com.br/books?id=Po0RLQ7USIMC&printsec=frontcover&hl=ptBR&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false>. Acesso em out. 2016.
- Latorre M.R.D.O. 2004. Medidas de risco e regressão logística, 337-350. In: Massad E., Menezes R.X., Silveira P.S.P. & Ortega N.R.S. (Eds), Métodos Quantitativos em Medicina. Manole, Barueri.
- Laurenti M.D. 2009. Correlação entre o diagnóstico parasitológico e sorológico na leishmaniose visceral americana canina. Bepa. 6(67):13-23.
- Magalhães L.F., Wilson T.M. & Medeiros A.A. 2012. Quadro clínico de cães com leishmaniose visceral e sua correlação com a sensibilidade do teste parasitológico. Vet. Not. 18(2):67-72.
- Malafaia G., Serafim T.D., Silva M.E., Pedrosa M.L & Rezende S.A. 2009. Proteinenergy malnutrition decreases immune response to *Leishmania chagasi* vaccine in BALB/c mice. Parasite Immunol. 31:41-49.
- Maziero N., Thomaz-Soccol V., Steindel M., Link J.S., Rossini D., Alban S.M. & Nascimento A.J. 2014. Rural-urban focus of canine visceral leishmaniosis in the far western region of Santa Catarina State, Brazil. Vet. Parasitol. 205(1): 92-95.
- Missawa N.A., Lorosa E.S. & Dias E.S. 2008. Preferência alimentar de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) em área de transmissão de leishmaniose visceral em Mato Grosso. Revta Soc. Bras. Med. Trop. 41(4):365-368.
- Moreira E.D., Souza V.M.M., Sreenivasan M., Lopes N.L., Barreto R.B. & Carvalho L.P. 2003. Peridomestic risk factors for canine leishmaniasis in urban dwellings: new findings from a prospective study in Brazil. Am. J. Trop. Med. Hyg. 69(4):393-397.
- Pimentel D.S., Ramos R.A., Santana M.A., Maia C.S., de Carvalho G.A., da Silva H.P. & Alves L.C. 2015. Prevalence of zoonotic visceral leishmaniasis in dogs in an endemic area of Brazil. Revta. Soc. Bras. Med. Trop. 48(4):491-493.
- Rondon F.C.M., Bevilacqua C.M., Franke C.R., Barros R.S., Oliveira F.R., Alcântara A.C. & Diniz A.T. 2008. Cross-sectional serological study of canine *Leishmania* infection in Fortaleza, Ceará state, Brazil. Vet. Parasitol. 155(1-2):24-31.

- Silva F.T.S., Santos J.T., Netto E.M., Bavia M.E., Nakatani M., Souza F.D.P., Cardim L.L. & Carneiro D.D.M.T. 2010. Aspectos clínicos da leishmaniose visceral canina no distrito de Monte Gordo, Camaçari (BA). *Revta. Baiana Saúde Públ.* 34(4):783-795.
- Silva J.D., Melo D.H.M., Costa J.A.G., Costa D.F., Silva R.B.S., Melo M.A., Azevedo S.S. & Alves C.J. 2017. Leishmaniose visceral em cães de assentamentos rurais. *Pesq. Vet. Bras.* 37(11):1292-1298.
- Silva R.B.S., Mendes R.S., Santana V.L., Souza H.C., Ramos C.P.S., Souza A.P., Andrade P.P. & Melo M.A. 2016. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral canina na zona rural do semiárido paraibano e análise de técnicas de diagnóstico. *Pesq. Vet. Bras.* 36(7): 625-629.
- Teixeira-Neto R.G., da Silva E.S., Nascimento R.A., Belo V.S., de Oliveira C.L., Pinheiro L.C. & Gontijo C.M. 2014. Canine visceral leishmaniasis in an urban setting of Southeastern Brazil: an ecological study involving spatial analysis. *Parasit. Vectors.* 7:485.
- Thrusfield M. 2007. *Veterinary Epidemiology*. Wiley Blackwell, Oxford. 610p.
- Ursine R.L., Dias J.V.L., Morais H.A. & Pires H.H.R. 2016. Human and canine visceral leishmaniasis in an emerging focus in Araçuaí, Minas Gerais: spatial distribution and socio-environmental factors. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 111(8):505-511.
- Vannucchi C.I., Lúcio C.F., Regazzi F.M., Angrimani D.S.R., Brito M.M. & Abreu R.A. 2016. Perfil de proteínas plasmáticas em cadelas gestantes e não gestantes. *Pesq. Vet. Bras.* 36(8):781-786.
- Vouldoukis I., Drapier J.C., Nüssler A.K., Tselentis Y., Da Silva O.A., Gentilini M., Mossalayi D.M., Monjour L. & Dugas B. 1996. Canine visceral leishmaniasis: successful chemotherapy induces macrophage antileishmanial activity via the l-arginine nitric oxide pathway. *Antimicrob. Agents Chemother.* 40(1):253-256.
- Who. 2017. Leishmaniasis. World Health Organization, Geneva. Disponível em <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>> Acesso em 23 out. 2017.
- Zafra R., Jaber J.R., Pérez-Ecija R.A., Barragán A., Martínez-Moreno A. & Pérez J. 2008. High iNOS expression in macrophages in canine leishmaniasis is associated with low intracellular parasite burden. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 123(3-4):353-3599.
- Zar J.H. 1999. *Biostatistical Analysis*. 4th ed. Prentice-Hall, New Jersey. 663p.

Legendas dos quadros e figuras

Quadro 1. Prevalência da leishmaniose visceral canina nos municípios estudados, 2017.

Quadro 2. Variáveis selecionadas na análise univariada dos possíveis fatores de risco associados à leishmaniose visceral canina na microrregião de Umbuzeiro, Agreste Paraibano, 2017.

Quadro 3. Fatores de risco associados à leishmaniose visceral canina na microrregião de Umbuzeiro, Agreste Paraibano, estimados por regressão logística múltipla, 2017.

Quadro 4. Fatores de risco associados à leishmaniose visceral canina por município estudado, estimados por regressão logística múltipla, 2017.

Figura 1. Mapa temático indicando a localização dos municípios da Paraíba estudados, 2017.

Figura 2. Seta: formas amastigotas de *Leishmania infantum* em citoplasma de macrófago no Baço. A: Objetiva de 40X. B: Objetiva de 100X, 2017.

Quadro 1

Município	Nº total de animais	Prevalência Geral	Prevalência Urbana	Prevalência Rural
Aroeiras	209	21 (10%)	7,2% (11/152)	17,5% (10/57)
Gado Bravo	101	19 (18,8%)	5,7% (2/35)	25,8% (17/66)
Natuba	130	18(13,8%)	13,8% (8/58)	13,9% (10/72)
Umbuzeiro	100	11 (11%)	6,2% (3/48)	15,4% (8/52)

Quadro 2

Variável	Nº total de animais	Animais positivos (%)	Valor de p
Município			
Aroeiras	209	21 (10%)	0,164*
Umbuzeiro	100	11 (11%)	
Gado Bravo	101	19 (18,8%)	
Natuba	130	18 (13,8%)	
Zona			
Urbana	293	24 (8,2%)	0,001*
Rural	247	45 (18,2%)	
Grau de Escolaridade			
Analfabeto	87	17 (19,5%)	0,127*
1º Grau incompleto	186	28 (15,1%)	
1º Grau completo	104	11(10,6%)	
2º Grau incompleto	75	7 (9,3%)	
2º Grau completo	47	5 (10,6%)	
3º Grau incompleto	16	0 (0%)	
3º Grau completo	25	1 (4%)	
Renda familiar			
Menos de 2 Salários Mínimos	463	65 (14%)	0,058*
2 a 4 Salários Mínimos	72	3 (4,2%)	
5 a 6 Salários Mínimos	5	1 (20%)	
Mais de 6 Salários Mínimos	0	0 (0%)	
Sexo			
Macho	335	40 (11,9%)	0,456
Fêmea	205	29 (14,1%)	
Idade (Meses)			
6 – 12	80	4 (5%)	0,176*
13 – 24	116	16 (13,8%)	
25 – 48	138	17 (12,3%)	
48 – 72	112	19 (17%)	
> 72	94	13 (13,8%)	
Raça			
CRD	41	2 (4,9%)	0,082*
SRD	499	67 (13,4%)	
Tipo de criação			
Domiciliar	224	18 (8%)	0,005*
Semidomiciliar	180	24 (13,3%)	
Solto	136	27 (19,9%)	
Alimentação			
Ração	25	4 (16%)	0,048*
Comida caseira	380	56 (14,7%)	
Ambos	135	9 (6,7%)	
Contato com animais			
Não	72	6 (8,3%)	0,225
Sim	468	63 (13,5%)	
Contato com equídeos			
Não	527	64 (12,1%)	0,005*

Sim	13	5 (38,5%)	
Contato com silvestres			
Não	457	54 (11,8%)	0,116*
Sim	83	15 (18,1%)	
Contato com felinos			
Não	276	34 (12,3%)	0,744
Sim	264	35 (13,3%)	
Contato com cães			
Não	172	12 (7%)	0,006*
Sim	368	57 (15,5%)	
Contato com suínos			
Não	514	65 (12,6%)	0,430
Sim	26	4 (15,4%)	
Contato com peq. ruminantes			
Não	511	66 (12,9%)	0,479
Sim	29	3 (10,3%)	
Contato com bovinos			
Não	497	62 (12,5%)	0,473
Sim	43	7 (16,3%)	
Contato com aves			
Não	299	33 (11%)	0,177*
Sim	241	36 (14,9%)	
Ambiente onde é criado			
Terra	268	38 (14,2%)	0,009*
Cimento	132	7 (5,3%)	
Terra e Cimento	140	24 (17,1%)	
Limpeza do local			
Não	165	27 (16,4%)	0,090*
Sim	376	42 (11,2%)	
Frequência de limpeza			
Diária	224	17 (16,4%)	0,023*
Semanal	134	24 (17,9%)	
Quinzenal	14	1 (7,1%)	
Mensal	3	0 (0%)	
Vermifugação			
Não	268	34 (12,7%)	0,950
Sim	272	35 (12,9%)	
Vacinação			
Nunca Vacinou	96	8 (8,3%)	0,153*
Apenas Antirrábica	418	60 (14,4%)	
Apenas Contra Vírus	8	1 (12,5%)	
Ambas	18	0 (0%)	
Presença de carrapatos			
Não	171	27 (15,8%)	0,154*
Sim	369	42 (11,4%)	
Cão de caça			
Não	460	57 (12,4%)	0,519
Sim	80	12 (15%)	
Adotado			
Não	234	28 (12%)	0,052*

De outro	192	19 (9,9%)
Da rua	114	22 (19,3%)

- *Variáveis usadas na regressão logística múltipla.

Quadro 3

Fatores de risco	<i>Odds Ratio</i>	IC 95%	Valor de p
Zona (rural)	2,280	1.204-4,320	0,011
Contato com equídeos	4,326	1,217-15,380	0,024

Quadro 4

Municípios	Fatores de risco	<i>Odds Ratio</i>	IC 95%	Valor de p
Gado Bravo	Sexo (fêmea)	3,171	1,013-9,929	0,048
Natuba	Idade (+ 6 anos)	2,122	1,210-3,720	0,009
Umbuzeiro	Contato com cães	7,888	1,445-43,067	0,017

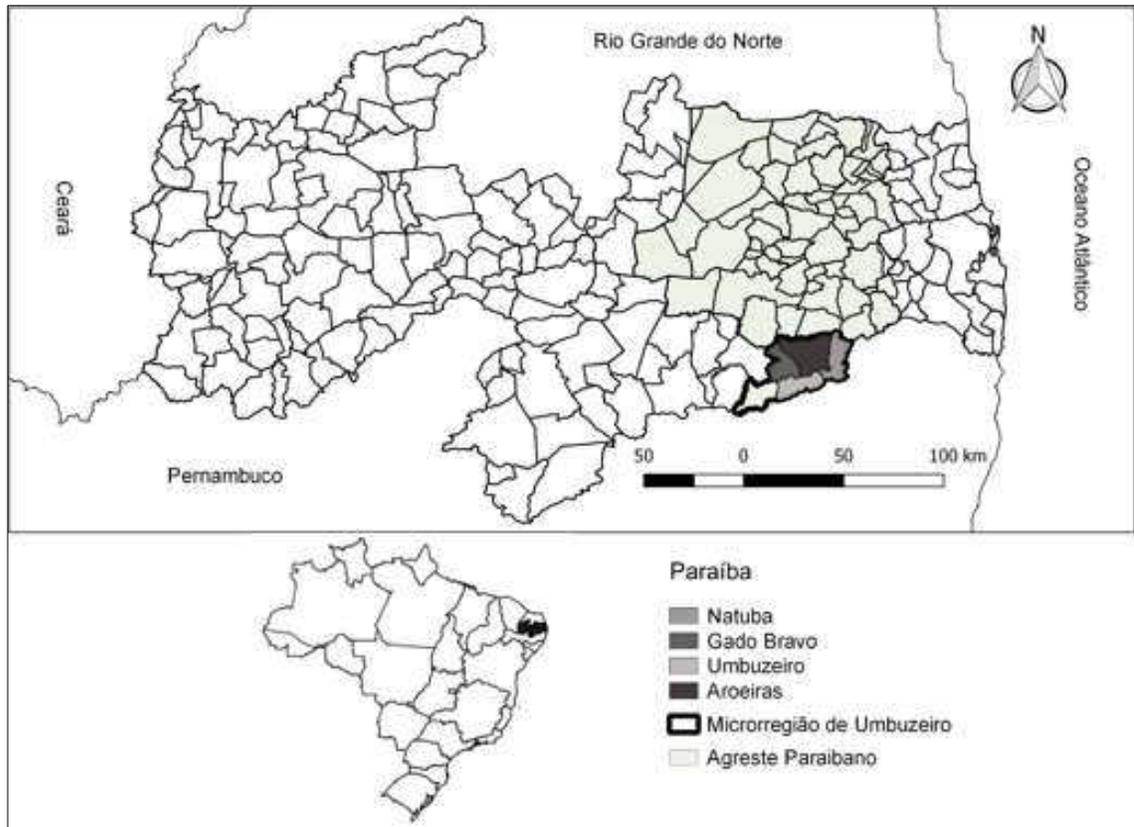


Figura 1

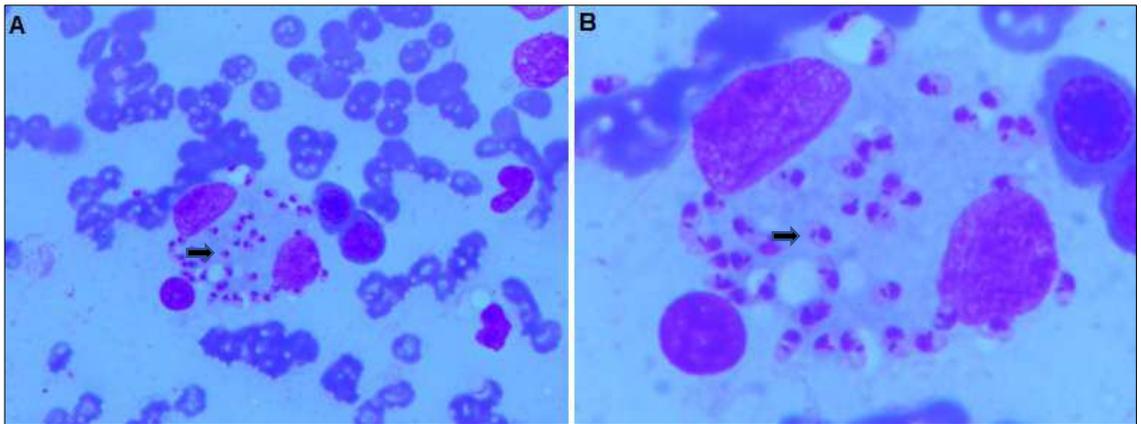


Figura 2

**3 CAPITULO II: PREVALÊNCIA, FATORES DE RISCO E DISTRIBUIÇÃO
ESPACIAL DA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA NO MUNICÍPIO DE SÃO
JOSÉ DE ESPINHARAS, SERTÃO PARAIBANO, BRASIL**

Manuscrito submetido à Revista Pesquisa
Veterinária Brasileira (ISSN: 0100-736X) -
Seropédica/RJ, Qualis A2.

Prevalência, fatores de risco e distribuição espacial da leishmaniose visceral canina no município de São José de Espinharas, Sertão Paraibano, Brasil¹

Laysa F.F. Silva^{2*}, Raizza B.S. Silva², Pedro P.S. Coelho³, Rafael C. Silva⁴,
Camila. A. Azevedo³, Beatriz M.A. Braz², Walter M. Ramalho⁵, Marcia A. Melo²

ABSTRACT.- Silva L.F.F., Silva R.B.S., Coelho P.P.S., Silva R.C., Azevedo C.A., Braz B.M.A., Ramalho W.M., Melo M.A. [**Prevalence, risk factors and spatial distribution of canine visceral leishmaniasis in the municipality of São José de Espinharas, Sertão Paraibano, Brazil**] Prevalência, fatores de risco e distribuição espacial da leishmaniose visceral canina no município de São José de Espinharas, Sertão Paraibano, Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, Av. Universitária, s/n. Bairro Sta. Cecília, Patos, PB 58708-110, Brasil. E-mail: laysafrfranco@gmail.com

Visceral leishmaniasis (VL), caused by *Leishmania infantum*, is a zoonosis with a great impact on public health and affects canids, humans and other mammals. The disease is endemic in several regions of Brazil and the presence of disease in dogs usually precedes human cases. The aim of this research was to estimate the prevalence of canine visceral leishmaniasis (CVL) in the municipality of São José de Espinharas, Sertão Paraibano, to identify the risk factors and observe the spatial distribution pattern. In 2017, 223 blood samples were collected from dogs from the urban (103) and rural (120) areas of São José de Espinharas municipality. The prevalence of VL was determined using ELISA/S7[®] (Biogene) and DPP[®] (Bio-Manguinhos) serological techniques, considering positives the samples that reacted in two assays. Risk factors were determined using univariate and multivariate statistical analyzes. The spatial analysis was performed in the QGIS, SatScan and Google Earth programs using the coordinates obtained by GPS (Global Position System) receiver.

¹ Recebido em.....

Aceito para publicação em.....

² Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (PPGMV), Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Patos, Av. Universitária s/n, Bairro Santa Cecília, Patos, PB 58708-110, Brasil. E-mails: raizzabss@hotmail.com, beatrizbraz89@hotmail.com, marcia.melo@pq.cnpq.br. *Autor para correspondência: laysafrfranco@gmail.com.

³ Curso de Graduação em Medicina veterinária, UFCG, Campus de Patos, PB, Brasil. E-mails: pedro_paulo747@hotmail.com, c.azevedo.ca@gmail.com.

⁴ Curso de Graduação em Ciências Biológicas, UFCG, Campus de Patos, PB, Brasil. E-mail: rafael.cosme34@gmail.com.

⁵ Universidade de Brasília, UNB, Campus Ceilândia, QNN 14 Área Especial, Ceilândia Sul, Brasília, DF 72220-140, Brasil. E-mail: walter.ramalho@gmail.com.

The prevalence of anti-*L. infantum* antibodies in the studied municipality was 8.5%, and higher in the urban area (9.7%) than in the rural area (7.5%). In rural areas, contact with small ruminants was identified as a risk factor for CVL infection (Odds Ratio = 4,621). Cases were mainly concentrated in areas with deforestation of local vegetation, both in rural and urban areas. In the urban area, a cluster was identified with higher risk in a peripheral area. The data obtained demonstrate the distribution of CVL throughout the municipality, but presenting areas with higher concentrations, and it is suggested to carry out control measures that prioritize them according to the risk factors found.

INDEX TERMS: zoonosis, calazar, dogs, Paraíba.

RESUMO.- A leishmaniose visceral (LV), causada pela *Leishmania infantum*, é uma zoonose de grande impacto na Saúde Pública e acomete canídeos, humanos e outros mamíferos. A doença é endêmica em diversas regiões do Brasil e a presença da enfermidade nos cães costuma preceder os casos humanos. O objetivo desta pesquisa foi estimar a prevalência da leishmaniose visceral canina (LVC) no município de São José de Espinharas, Sertão Paraibano, identificar seus fatores de risco e observar o padrão de distribuição espacial. No ano de 2017, coletou-se 223 amostras de sangue de cães da zona urbana (103) e rural (120) do município de São José de Espinharas. A prevalência de LV foi determinada através das técnicas sorológicas ELISA/S7[®] (Biogene) e DPP[®] (Bio-Manguinhos), considerando positivas as amostras que reagiram nos dois testes. Os fatores de risco foram determinados por meio das análises estatísticas uni e multivariada. A análise espacial foi realizada nos programas QGIS, SatScan e Google Earth a partir das coordenadas obtidas por GPS (Global Position System). A prevalência de anticorpos anti-*L. infantum* encontrada no município estudado foi de 8,5%, sendo maior na zona urbana (9,7%) do que na rural (7,5%). Na zona rural, o contato com pequenos ruminantes foi identificado como fator de risco para a infecção (Odds Ratio = 4,621). Os casos de LVC se concentraram, principalmente, em áreas com desmatamento da vegetação local nas zonas rural e urbana. Na zona urbana, foi identificado um *cluster* com risco mais elevado em uma área periférica. Os dados obtidos demonstram a distribuição da LVC por todo o município, porém apresentando áreas com maiores concentrações, sendo sugerida a realização de medidas de controle que as priorizem, de acordo com os fatores de risco encontrados.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: zoonose, calazar, cães, Paraíba.

INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral (LV) é uma enfermidade de caráter zoonótico com grande impacto na Saúde Pública, causada pelo protozoário *Leishmania infantum* (sinônimo *L. chagasi*). A principal forma de transmissão da doença é através da picada de insetos flebotomíneos infectados, da família Psychodidae, sendo a espécie *Lutzomyia longipalpis* considerada a principal transmissora no Brasil (Monteiro et al. 2005, Who 2017).

Esta zoonose tem ampla distribuição mundial ocorrendo na Ásia, Europa, Oriente Médio, África e nas Américas. Na América Latina, a doença já foi relatada em, pelo menos, 12 países e 90% dos casos ocorrem no Brasil, principalmente na Região Nordeste (Brasil 2014). Nesta região, foram relatados valores de prevalência em cães entre 0,7% e 55% (Amóra et al. 2004, Barboza et al. 2009).

O programa de vigilância e controle da LV recomenda, dentre outras medidas, a detecção dos cães infectados através de análises sorológicas, com posterior eutanásia dos animais positivos (Brasil 2014), já que o cão é considerado o principal elo na cadeia de transmissão da LV, com relatos de sua infecção em focos da doença humana (Melo, 2004, Ursine et al. 2016) e os medicamentos disponíveis não eliminam por completo a infecção.

No entanto, as dificuldades na eliminação do reservatório canino (medida que tem sido relatada como insatisfatória e gerado grandes polêmicas), as insuficientes ações de controle vetorial, a adaptabilidade do vetor e o alto custo destas medidas podem estar contribuindo para uma maior disseminação da doença, demonstrando a necessidade de uma revisão dos procedimentos de controle adotados atualmente (Oliveira et al. 2008, Machado et al. 2016).

O estudo da prevalência e fatores de risco associados à infecção canina apontam ações necessárias ao controle da endemia às agências e aos órgãos de vigilância locais. Ferramentas de análise espacial podem auxiliar nas pesquisas epidemiológicas e, assim, contribuir para um maior reconhecimento da realidade local, proporcionando uma visão ampliada da situação do agravo no espaço, apontando os problemas do território e auxiliando na tomada de decisões referentes à situação de saúde observada, o que promove melhorias na eficiência do uso de recursos públicos (Pavarini et al. 2008, Ribeiro et al. 2014).

Diversas pesquisas vêm empregando o geoprocessamento para avaliação das características epidemiológicas da LV, reiterando seu processo de urbanização (Bevilacqua et al. 2001, Maia et al. 2014) e demonstrando a importância dos estudos epidemiológicos em cães, dada a constatação de sobreposição espacial entre casos caninos e humanos (Ursine et al. 2016). Além disso, aponta-se outros fatores associados à infecção, como condições socioeconômicas e características ambientais (Cerbino-Neto et al. 2009, Maia et al. 2014).

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo estimar a prevalência e identificar os fatores de risco associados à LVC, bem como observar seu padrão de distribuição espacial no município de São José de Espinharas, Sertão Paraibano.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), sob o protocolo nº 58/2017.

O estudo foi realizado no município de São José de Espinharas (6°50'49" latitude sul e 37°19'33" longitude oeste), localizado na mesorregião do Sertão Paraibano e microrregião de Patos. Ocupando uma área de aproximadamente 725.656Km², é considerado o 3º maior município em área territorial no Estado da Paraíba (Figura 1). Possui clima tropical quente seco, chuvas escassas e mal distribuídas, temperatura máxima de 34,9°C e mínima de 20,1°C, com índices pluviométricos médios de 848mm/ano e umidade relativa do ar de, em média, 41,6%. Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), censo de 2010, a população do município é de 4760 habitantes, com aproximadamente 66% da população residente na área rural, apresentando Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) de 0,577.

Foram coletadas amostras de sangue de cães domiciliados, acima de seis meses de idade e sem distinção de raça ou sexo, entre maio e setembro de 2017. Considerando a existência de um cão para cada sete habitantes, a população canina estimada é de 680 cães. O tamanho amostral foi determinado através da fórmula para amostras simples aleatórias, com base numa prevalência esperada de 50% (a fim de maximizar a amostragem), nível de confiança de 95% e um erro amostral de 7% (Thrusfield 2007), o que resultou em uma população amostral de, pelo menos, 196 cães. A abordagem junto às residências foi realizada com o apoio da Secretaria de Vigilância em Saúde do município, nas áreas rurais e urbanas, cuja escolha foi vinculada à presença de cães. A área rural avaliada incluiu os assentamentos Oziel Alves, Tiradentes I e II, Cachoeira, Nova Espinharas e Nova Santana. A área urbana, por sua vez, incluiu diferentes bairros, com localizações distintas, visando abranger a maior área possível.

O sangue foi obtido por venopunção cefálica ou jugular, em um total de 5mL, com o auxílio de seringa de 5mL e agulhas 25 X 8mm, estéreis e de uso individual. O sangue foi imediatamente depositado em tubo contendo citrato de sódio a 4%. Após a coleta, o material foi encaminhado ao Laboratório de Biologia Molecular do Semiárido (BiolMol/UFCG), Campus Patos-PB. As amostras foram centrifugadas em 2000rpm durante 5 minutos para

separação do plasma, que foi armazenado em microtubos de 1,5mL, identificado e estocado a -20°C até a realização dos ensaios sorológicos.

Para determinar a prevalência da LVC, foram consideradas positivas as amostras que reagiram simultaneamente no Kit ELISA/S7[®] (Biogene) e no teste rápido DPP[®] (Bio-Manguinhos), realizados no BiolMol/UFCG, seguindo o protocolo dos fabricantes.

Durante as coletas, os tutores dos cães responderam a um questionário epidemiológico com o intuito de verificar fatores socioambientais que atuam como possíveis fatores de risco para a LVC. As variáveis investigadas relacionadas ao tutor foram: grau de escolaridade e renda familiar; e ao cão foram: sexo; idade; raça; tipo de criação; alimentação; contato com outros animais; com quais tem contato (equídeos, silvestres, felinos, cães, suínos, pequenos ruminantes, bovinos e aves); ambiente onde é criado; limpeza do local; frequência de limpeza; vacinação; vermifugação; presença de carrapatos; sempre morou em São José de Espinharas; adotado; cão de caça; local onde dorme; como passa a noite; quando viaja leva o cão junto; local das viagens; faz uso de coleira repelente (ANEXO A).

A análise dos fatores de risco associados à soropositividade foi efetuada em duas etapas, análise univariada e análise multivariada. As variáveis independentes foram categorizadas e codificadas de acordo com Latorre (2004). As variáveis que apresentaram um valor de $p \leq 0,20$, pelo teste de qui-quadrado ou teste exato de Fisher (Zar 1999), foram usadas na análise multivariada através de regressão logística múltipla (Hosmer & Lemesho 2000). O nível de significância adotado na análise múltipla foi de 5%. As análises foram realizadas com o programa SPSS 22.0 for Windows.

Para a análise e representação espacial dos casos de LVC em São José de Espinharas, as coordenadas geográficas foram marcadas, obtendo-se a localização de cada imóvel participante através do receptor GPS (Global Position System) Garmin eTrex 30, no momento da coleta de sangue. Os dados georreferenciados foram inseridos na base cartográfica digitalizada do município. Para a confecção dos mapas e visualização espacial dos casos caninos de LV no município, foram utilizados os Sistemas de Informações Geográficas (SIG) livres, Google Earth 7.3.0 e o QGIS.

As análises da distribuição espacial da LVC foram realizadas, inicialmente, por meio de análise descritiva da situação epidemiológica da doença no município, confeccionou-se, então, um mapa de calor através da função quártica da estimativa Kernel para observação de aglomerados (áreas quentes) de casos da doença, utilizando o software QGIS e, para a verificação das áreas em que o número de casos caninos se encontrava acima do esperado, foi

utilizado um método de estatística espacial de varredura para detecção de *clusters*, utilizando o modelo de Bernoulli, realizado com auxílio do software SatScan.

RESULTADOS

Foram coletadas 223 amostras de sangue de cães do município de São José de Espinharas, 103 eram da zona urbana e 120 da zona rural. O teste de ELISA/S7[®] resultou em 50 (22,4%) amostras positivas e o teste rápido DPP[®], em 74 amostras reagentes (33,1%). A soroprevalência encontrada para LVC foi de 8,5% (19/223, IC 95% 5,5-12,9%), com prevalências de 9,7% (10/103) e 7,5% (9/120) na zona urbana e rural, respectivamente.

Em relação aos tutores dos cães, 44,4% (99/223) possuíam nível escolar de 1º grau incompleto e a maioria relatou renda familiar menor que dois salários mínimos (93,3%); todos os animais positivos pertenciam a tutores com essa condição econômica. O contato dos cães com outros animais (cães, gatos, equinos, ruminantes, aves e/ou animais silvestres) foi relatado por 89,2% (199/223) dos tutores e todos os cães positivos mantinham algum tipo de contato com outros animais.

Os fatores selecionados na análise univariada da zona urbana do município foram: sexo, contato com equídeos e caninos, vacinação, viagens com o cão e local de destino (Quadro 1). Nenhuma dessas variáveis foi apontada como fator de risco na análise multivariada.

Quando a análise univariada dos fatores associados à LVC foi realizada para a zona rural, foram selecionados: escolaridade, atividade de caça e contato com pequenos ruminantes (Quadro 1), sendo esta última variável identificada como fator de risco na análise multivariada (*Odds Ratio* = 4,621; IC = 1,037-20,595; *p* = 0,045).

Na avaliação descritiva da distribuição da LVC no município, foi possível observar a presença de animais positivos em todos os assentamentos visitados na zona rural, com exceção do Cachoeira. Houve formação de agrupamentos de casos nos Assentamentos Oziel Alves e Tiradentes II. Na Zona Urbana, observou-se a presença de casos caninos em diferentes áreas da cidade, mas os aglomerados se localizaram nos limites entre as áreas urbana e rural nas extremidades norte e sudeste (Figura 2). Quando a análise estatística espacial foi empregada, um único *cluster* foi identificado como área de risco de acordo com os casos de LVC, localizado na extremidade sudeste da zona urbana do município, que é uma área de urbanização recente. A medida de associação utilizada no cálculo dos *clusters* foi o risco relativo, sendo observado um risco de infecção canina de 14,29 vezes maior em relação às outras áreas da cidade (Figura 3).

DISCUSSÃO

A prevalência da LVC tem sido objeto de estudo em diferentes regiões do Brasil, demonstrando uma ampla variação, com valores entre 0,17% a 55% (Amóra et al. 2004, Silva et al. 2010, De Nardo et al. 2011, Almeida et al. 2012, Pimentel et al. 2015), sendo os maiores percentuais observados na região Nordeste.

Estudos realizados em outras áreas endêmicas relatam prevalências semelhantes às observadas no presente estudo. Barbosa et al. (2015) identificaram soroprevalência de 10,3% em áreas periféricas de Natal-RN, Azevedo et al. (2008) de 7,8% em Poxoréo-MG e Silva et al. (2016) de 11,3% na zona rural de Patos-PB.

Prevalências menores foram observadas por Fernandes et al. (2016) e Barboza et al. (2009), com valores de 3,6% em Campina Grande-PB e 0,7% em Salvador-BA, respectivamente. Alguns fatores podem estar implicados na variação observada nos diferentes estudos, como as características da população, as condições socioambientais, a metodologia empregada na avaliação e, ainda, fatores climáticos, visto que a população de flebotomíneos apresenta variação sazonal, predominando nos períodos do ano de mais alta precipitação e umidade relativa do ar (Barata et al. 2004, Azevedo et al. 2008).

A participação de outras espécies de animais (aves, equinos, gambás, ovelhas, cabras e roedores) na epidemiologia da LV parece estar associada à capacidade de atração dos vetores ao peridomicílio, por propiciarem boas condições ambientais para fauna flebotomínea e servirem de fonte alimentar para o vetor (Azevedo et al. 2008, Afonso et al. 2012, Rohousova et al. 2015). A identificação de combinações de dois ou três tipos de sangue de diferentes hospedeiros em algumas fêmeas de flebotomíneos é uma forte evidência da dieta eclética, adaptabilidade e do hábito oportunista do vetor (Afonso et al. 2012). Quando a densidade populacional está elevada, torna-se mais provável que o vetor invada as residências fazendo repastos sanguíneos em cães e humanos (Moreira et al. 2003, Barnett et al. 2005).

Bhattarai et al. (2010) comprovaram a ocorrência de LV em cabras, no Nepal, e identificaram que a proximidade a cabras positivas se apresentava em primeiro lugar entre vários possíveis fatores de risco analisados para a infecção por *Leishmania* sp. nos humanos. E Singh et al. (2013), em estudos realizados na Índia, afirmaram que as cabras são potenciais reservatórios para LV humana. A infecção em ovinos também já foi relatada (Singh et al. 2013, Afonso et al. 2012, Rohousova et al. 2015). No presente estudo, o contato dos cães com pequenos ruminantes aumentou o risco para infecção canina, mas o verdadeiro envolvimento destas espécies no ciclo de transmissão da doença ainda carece de mais investigações, entretanto servem de fonte de alimento para o flebótomo aproximando-o das moradias.

Fatores relacionados aos tutores, como a renda e o nível de escolaridade, também são indicados como fatores de risco para doença (Coura-Vital et al. 2011, Silva et al. 2017). No presente estudo, a maioria dos tutores possuía renda de até dois salários mínimos e 1º grau incompleto e a ocorrência de LV foi maior nos cães pertencentes a estes tutores. Ainda que não tenha sido observada significância estatística, essas características demonstram uma população de baixa renda que pode viver em situação favorecedora ao surgimento e manutenção da doença. Além disso, a falta de educação em saúde, repassada durante a formação estudantil, pode refletir na ausência de práticas de prevenção e controle da zoonose.

Na análise espacial descritiva, os agrupamentos de casos observados na zona rural estavam situados nos Assentamentos Oziel Alvez e Tiradentes II. Neste município, as atividades pecuárias giram em torno da bovinocultura, caprinovinocultura, avicultura e suinocultura, além da atividade agrícola com plantação de arroz, feijão, melancia, milho, tomate, batata doce e algodão (IBGE 2010). Em todos os casos positivos, os cães tinham algum tipo de contato com outros animais domésticos e, como já mencionado, a presença de outras espécies animais pode favorecer a proliferação de flebotomíneos que, juntamente com o desmatamento da vegetação local para dar lugar à produção agrícola ou pecuária, afeta a dinâmica ambiental dos vetores e facilita a colonização do ambiente periurbano, promovendo ampliação das áreas de ocorrência e do risco de transmissão da LV (Ximenes et al. 2007, Marcondes & Rossi 2013, Maia et al. 2014).

Bavia et al. (2005), através de análise espacial de casos caninos e humanos na Bahia, também constataram que, quanto menor a cobertura vegetal, maior a quantidade de flebotomíneos e o risco de infecção em cães e humanos. Entretanto, Silva et al. (2011), em Barra de Guaratiba-RJ, identificaram títulos sorológicos mais elevados em cães de áreas onde a vegetação era preservada, afirmando que os padrões de transmissão podem ser influenciados por fatores focais capazes de produzir diferenças micro-epidemiológicas que culminam em diferentes riscos de transmissão.

Na zona urbana, que demonstrou a maior prevalência de LVC no município, os agrupamentos observados se localizaram em áreas periféricas e o *cluster* identificado como de risco para doença na análise estatística estava situado em uma área de ocupação recente onde, nos últimos anos, houve desmatamento para expansão urbana, com grande perda da vegetação local (Figura 4). Cesse et al. (2001) também relataram, na cidade de Petrolina-PE, a maior ocorrência da doença em áreas de ocupação urbana recente, na periferia do município, demonstrando a presença da LV em espaços modificados pelo homem, onde havia

saneamento básico precário, presença de animais domésticos no domicílio e peridomicílio e uma população com baixa escolaridade.

Outros autores, por meio de análise espacial, também têm observado predominância da doença em áreas urbanas (Bevilacqua et al. 2001, Campos et al. 2017), inclusive relacionada à perda da cobertura vegetal (Maia et al. 2014). No entanto, em Terezina-PI, Cerbino-Neto et al. (2009) relacionaram a maior incidência de LV a áreas com vegetação abundante na periferia do município.

O perfil epidemiológico da LV vem se alterando ao longo dos anos e a urbanização tem sido relatada em diferentes regiões do Brasil (Gontijo & Melo 2004, Nascimento et al. 2008, Bavia et al. 2011). Um dos fatores que pode justificar a expansão da doença é, justamente, a ocupação urbana desordenada com condições precárias de saneamento e com degradação ambiental (Cesse et al. 2001, Maia et al. 2014, Teles et al. 2015, Who 2017). Dificuldades na eliminação do reservatório, a capacidade adaptativa do vetor associada a medidas de controle vetorial insuficientes e o alto custo das estratégias de controle, também podem estar contribuindo para uma maior disseminação da doença (Oliveira et al. 2008).

CONCLUSÕES

O presente trabalho aponta para ocorrência da LVC em áreas de ocupação urbana recente no município de São José de Espinharas e a influência que ações antrópicas, como o desmatamento, exercem na ocorrência da doença. Áreas e fatores de risco para LVC foram identificados e devem ser priorizados para o controle da doença na zona rural e urbana. Sugere-se que o município realize campanhas educativas para a população acerca da enfermidade, enfatizando os cuidados no manuseio de criadouros de animais e limitação do contato dos cães com os mesmos, impedindo a formação de um ambiente propício para proliferação dos vetores, bem como para o surgimento da doença canina e humana. O uso de técnicas de análise espacial se demonstrou eficiente na observação de áreas de risco, reafirmando sua importância para um melhor conhecimento da situação epidemiológica da leishmaniose visceral.

REFERÊNCIAS

Afonso M.M.S., Duarte R., Miranda C., Caranha L. & Rangel E.F. 2012. Studies on the Feeding Habits of *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) Populations from Endemic Areas of American Visceral Leishmaniasis in Northeastern Brazil. J. Trop. Med. 2012:1-5.

- Almeida A.B.P.F., Sousa V.R.F., Cruz F.A.C.S., Dahroug M.A.A., Figueiredo F.B. & Madeira M.F. 2012. Canine visceral leishmaniasis: seroprevalence and risk factors in Cuiabá, Mato Grosso, Brazil. *Revta. Bra. Parasitol. Vet.* 21(4):359-365.
- Amóra S.S.A., Santos M.J., Saraiva J.C., Feijó F.M.C., Filgueira K.D., Rego R.O. & Alves N.D. 2004. Detecção de anticorpos anti-*Leishmania chagasi* em cães da área rural do município de Mossoró, Rio Grande do Norte. *Ciênc. Anim. Bras.* 5:166-168.
- Azevedo M.A.A., Dias A.K.K., De Paula H.B., Perri S.H.V. & Nunes C.M. 2008. Avaliação da leishmaniose visceral canina em Poxoréo, Estado do Mato Grosso, Brazil. *Revta. Bras. Parasitol. Vet.* 17(3):123-127.
- Barata R.A., Silva J.C.F., Costa R.T., Fortes-Dias C.L., Silva J.C., Paula E.V., Prata A., Monteiro E.M. & Dias E.S. 2004. Phlebotomine Sand Flies in Porteirinha, an Area of American Visceral Leishmaniasis Transmission in the State of Minas Gerais, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 99(5):481-487.
- Barbosa I.R., Carlota F.C. & Andrade-Neto V.F. 2015. Seroepidemiological Survey of Canine *Leishmania* Infections from Peripheral Areas in Natal, Northeast Brazil. *Open Microbiol. J.* 9:43-47
- Barboza D.C.P.M., Leal D.C., Souza B.M.P.S., Carneiro A.J.B., Gomes-Neto C.M.B., Alcântara A.C., Julião F.S., Moura S.A.B., Peralva L.M.P., Ferreira F. & Franke C.R. 2009. Inquérito epidemiológico da leishmaniose visceral canina em três distritos sanitários do Município de Salvador, Bahia, Brasil. *Revta. Bras. Saúde Prod. Anim.* 10(2):434-447.
- Barnett P.G., Singh S.P., Bern C., Hightower A.W. & Sundar S. 2005. Virgin soil: the spread of visceral leishmaniasis into Uttar Pradesh, India. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 73(4):720-725.
- Bavia M.E., Carneiro D.D.M.T., Gurgel H.C., Filho C.M. & Barbosa M.G.R. 2005. Remote Sensing and Geographic Information Systems and risk of American Visceral Leishmaniasis in Bahia, Brazil. *Parasitologia.* 47:165-169.
- Bavia M.E., Ribeiro F.S., Martins M.S., Cardim L.L., Silva M.M.N. & Carneiro D.D.M.T. 2011. Geotecnologias na identificação de fatores ambientais relacionados à ocorrência da leishmaniose visceral americana em Conde, Bahia, Brasil. *Rev. Bras. Saúde Prod. An.* 12(4):949-960.
- Bevilacqua P.D., Paixão H.H., Modena C.M. & Castro M.C.P.S. 2001. Urbanização da leishmaniose visceral em Belo Horizonte. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 53(1).
- Bhattarai N.R., Auwera G.V., Rijal S., Picado A., Speybroeck N., Khanal B., Doncker S., Das M.L., Ostyn B., Davies C., Coosemans M., Berkvens D., Boelaert M. & Dujardin J.C.

2010. Domestic Animals and Epidemiology of Visceral Leishmaniasis, Nepal. *Emerg. Infect. Dis.* 16(2).
- Brasil. 2014. Ministério da Saúde. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. 1th ed. Brasília (DF): Ministério da Saúde. 120p.
- Campos R., Santos M., Tunon G., Cunha L., Magalhães L., Moraes J., Ramalhos D., Lima S., Pacheco J.A., Lipscomb M., Jesus A.R. & Almeida R.P. 2017. Epidemiological aspects and spatial distribution of human and canine visceral leishmaniasis in an endemic area in northeastern Brazil. *Geospat. Health.* 12(503):67-73.
- Cerbino-Neto J., Werneck G.L. & Costa C.H.N. 2009. Factors associated with the incidence of urban visceral leishmaniasis: an ecological study in Teresina, Piauí State, Brazil. *Cad. Saúde Pública.* 25(7):1543-1551.
- Cesse E.A.P., Carvalho E.F., Andrade P.P., Ramalho W.M. & Luna L. 2001. Organização do espaço urbano e expansão do calazar. *Revta. bras. saúde matern. infant.* 1(2):167-176.
- Coura-Vital W., Marques M.J., Veloso V.M., Roatt B.M., Aguiar-Soares R.D.O., Reis L.E.S., Braga S.L., Morais M.H.F., Reis A.B. & Carneiro M. 2011. Prevalence and Factors Associated with *Leishmania infantum* Infection of Dogs from an Urban Area of Brazil as Identified by Molecular Methods. *PLoS Negl Trop Dis.* 5(8).
- De Nardo C.D.D., Rossi C.N., Laurenti, M.D. & Marcondes, M. 2011. Detecção de anticorpos anti-*Leishmania infantum syn chagasi* em cães de São José do Rio Preto, São Paulo. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 48 (5): 425-428.
- Fernandes A.R.F., Pimenta C.L.R.M., Vidal I.F., Oliveira G.C., Sartori R.S., Araujo R.B., Melo M.A., Langoni H. & Azevedo S.S. 2016. Risk factors associated with seropositivity for *Leishmania* spp. and *Trypanosoma cruzi* in dogs in the state of Paraíba, Brazil. *Ver. Bras. Parasitol. Vet.* 25(1):90-98.
- Gontijo C.M.F. & Melo M.N. 2004. Leishmaniose Visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. *Revta. Bras. Epidemiol.* 7(3):338-349.
- Hosmer D.W. & Lemesho W.S. 2000. Applied Logistic Regression. 2nd ed. John Wiley and Sons, New York, 375p. Disponível em <http://books.google.com.br/books?id=Po0RLQ7USIMC&printsec=frontcover&hl=ptBR&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false>. Acesso em out. 2016.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2010. IBGE Cidades. Disponível em <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pb/sao-jose-de-espinharas/panorama>> Acesso em 30 out. 2017.

- Latorre M.R.D.O. 2004. Medidas de risco e regressão logística, 337-350. In: Massad E., Menezes R.X., Silveira P. S.P. & Ortega N. R.S. (Eds), Métodos Quantitativos em Medicina. Manole, Barueri.
- Machado C.J.S., Silva E.G. & Vilani R.M. 2016. O uso de um instrumento de política de saúde pública controverso: a eutanásia de cães contaminados por leishmaniose no Brasil. *Saúde Soc.* 25(1):247-258.
- Maia C.S., Pimentel D.S., Santana M.A., Oliveira G.M., Pedrosa N.A., Nascimento L.A., Faustino M.A.G. & Alves L.C. 2014. Análise espacial da leishmaniose visceral americana no município de Petrolina, Pernambuco, Brasil. *Hygeia.* 10(18):167-176.
- Marcondes M. & Rossi C.N. 2013. Leishmaniose visceral no Brasil. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 50(5):341-352.
- Melo M.N. 2004. Leishmaniose visceral no Brasil: desafios e perspectivas. XIII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária & I Simpósio Latino-Americano de Rickettsioses, Ouro Preto, MG.
- Monteiro E.M., Silva J.C.F., Costa R.T., Costa D.C., Barata R.A., Paula E.V., Machado-Coelho G.L.L., Rocha M.F., Fortes-Dias C.L. & Dias E.S. 2005. Leishmaniose visceral: estudo de flebotomíneos e infecção canina em Montes Claros, Minas Gerais. *Revta. Soc. Bras. Med. Trop.* 38:147-152.
- Moreira E.D., Souza V. M.M., Sreenivasan M., Lopes N. L., Barreto R.B. & Carvalho L.P. 2003. Peridomestic risk factors for canine leishmaniasis in urban dwellings: new findings from a prospective study in Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 69(4):393-397.
- Nascimento E.L.T., Martins D.R., Monteiro G.R., Barbosa J.D., Ximenes M.F.F.M., Maciel B.L., Duarte I. & Jerônimo S.M.B. 2008. Forum: geographic spread and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. Postscript: new challenges in the epidemiology of *Leishmania chagasi* infection. *Cad. Saúde Pública.* 24(12):2964-2967.
- Oliveira C.D.L., Morais M.H.F. & Machado-Coelho G.L.L. 2008. Visceral leishmaniasis in large Brazilian cities: challenges for control. *Cad. Saúde Pública.* 24(12):2953-2958.
- Pavarini S.C., Mendiondo E.M., Montañó M., Almeida D.M.F., Mendiondo M.S.Z., Barham E.J. & Pedrazzani E.S. 2008. Sistema de informações geográficas para a gestão de programas municipais de cuidado a idosos. *Texto Contexto Enfermagem.* 17(1):17-25.
- Pimentel D.S., Ramos R.A., Santana M.A., Maia C.S., Carvalho G.A., Silva H.P. & Alves L.C. 2015. Prevalence of zoonotic visceral leishmaniasis in dogs in an endemic area of Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 48(4):491-493.

- Ribeiro M.A., Albuquerque I.M.N., Paiva G.M., Vasconcelos J.P.C., Araújo M.A.V.F. & Vasconcelos M.I.O. 2014. Georreferenciamento: ferramenta de análise do sistema de saúde de Sobral - Ceará. SANARE. 13(2):63-69.
- Rohousova I., Talmi-Frank D., Kostalova T., Polanska N., Lestinova T., Kassahun A., Yasur-Landau D., Maia C., King R., Votypka J., Jaffe C.L., Warburg A., Hailu A., Volf P. & Baneth G. 2015. Exposure to *Leishmania* spp. and sand flies in domestic animals in northwestern Ethiopia. Parasit. Vectors. 8:360.
- Silva A.V.M., Magalhães M.A.F.M., Brazil R.P. & Carreira J.C.A. 2011. Ecological study and risk mapping of leishmaniasis in an endemic area of Brazil based on a geographical information systems approach. Geospatial Health. 6(1):33-40.
- Silva F.T.S., Santos J.T., Netto E.M., Bavia M.E., Nakatani M., Souza F.D.P., Cardim L.L. & Carneiro D.D.M.T. 2010. Aspectos clínicos da leishmaniose visceral canina no distrito de Monte Gordo, Camaçari (BA). Revta. Baiana Saúde Públ. 34(4):783-795.
- Silva K.B.M., Castro J.G.D., Calabrese K., Seibert C.S., Nascimento G.N., Mariano S.M.B., Figueiredo B.N.S. & Santos M.G. 2017. Análise espacial da leishmaniose visceral no município de Palmas, Tocantins, Brasil. Hygeia. 13(25):18-29.
- Silva R.B.S., Mendes R.S., Santana V.L., Souza H.C., Ramos C.P.S., Souza A.P., Andrade P. P. & Melo MA. 2016. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral canina na zona rural do semiárido paraibano e análise de técnicas de diagnóstico. Pesq. Vet. Bras. 36(7):625-629.
- Singh N., Mishra J., Singh R. & Singh S. 2013. Animal reservoirs of visceral leishmaniasis in India. J Parasitol. 99(1):64-67.
- Teles A.P.S., Herrera H.M., Ayres F.M., Brazuna J.C.M. & Abreu U.G.P. 2015. Fatores de risco associados à ocorrência da leishmaniose visceral na área urbana do município de Campo Grande/MS. Hygeia. 11(21):35-48.
- Thrusfield M. 2007. Veterinary Epidemiology. Wiley Blackwell, Oxford. 610p.
- Ursine R.L., Dias J.V.L., Morais H.A. & Pires H.H.R. 2016. Human and canine visceral leishmaniasis in an emerging focus in Araçuaí, Minas Gerais: spatial distribution and socio-environmental factors. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 111(8):505-511.
- Who. 2017. Leishmaniasis. World Health Organization, Geneva. <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>> Acesso em 13 nov. 2017.
- Ximenes M.F.F.M., Silva V.P.M., Queiroz P.V.S., Rego M.M., Cortez A.M., Batista L.M.M., Medeiros A.S. & Jeronímio S.M.B. 2007. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) e

Leishmanioses no Rio Grande do Norte, Nordeste do Brasil - Reflexos do Ambiente Antrópico. Neotrop. Entomol. 36(1):128-137.

Zar J.H. 1999. Biostatistical Analysis. 4th ed. Prentice-Hall, New Jersey. 663p.

Legendas dos quadros e figuras

Quadro 1. Análise univariada dos possíveis fatores de risco associados à leishmaniose visceral canina nas zonas urbana e rural de São José de Espinharas/PB, 2017.

Figura 1. Mapa temático da localização do município de São José de Espinharas na Paraíba, 2018.

Figura 2. Mapa de calor com demonstração dos agrupamentos e distribuição dos casos de leishmaniose visceral canina no município de São José de Espinharas/PB. A: Zona urbana; B: Zona rural, 2018.

Figura 3. Mapa da distribuição dos casos de leishmaniose visceral canina na zona urbana de São José de Espinharas/PB e localização do *cluster* em área periférica, 2018.

Figura 4: Imagem de satélite demonstra a perda de vegetação nativa nas periferias da zona urbana de São José de Espinharas/PB. A: Imagem de 2011; B: Imagem de 2018. Fonte: Google Earth (2018).

Quadro 1

Variável	Zona Urbana			Zona Rural		
	Nº total de animais	Animais positivos (%)	Valor de p	Nº total de animais	Animais positivos (%)	Valor de p
Grau de Escolaridade						
Analfabeto	8	1 (12,5%)		27	2 (7,4%)	
1º Grau incompleto	42	5 (11,9%)		57	4 (7%)	
1º Grau completo	16	0 (0%)		22	2 (9,1%)	
2º Grau incompleto	3	0 (0%)	0,753	8	0 (0%)	0,036*
2º Grau completo	29	4 (13,8%)		3	0 (0%)	
3º Grau incompleto	4	0 (0%)		1	1(100%)	
3º Grau completo	1	0 (0%)		2	0 (0%)	
Renda familiar						
Menos de 2 Salários Mínimos	88	10(11,4%)		120	9 (7,5%)	
2 a 4 Salários Mínimos	14	0 (0%)	0,389	0	0 (0%)	-
Mais de 6 Salários Mínimos	1	0 (0%)		0	0 (0%)	
Sexo						
Macho	58	3 (5,2%)	0,077*	87	8 (9,2%)	0,233
Fêmea	45	7 (15,6%)		33	1 (3%)	
Idade (Meses)						
6 – 12	18	0 (0%)		20	1 (5%)	
13 – 24	21	2 (9,5%)		34	2 (5,9%)	
25 – 48	32	5 (15,6%)	0,467	27	1 (3,7%)	0,651
48 – 72	16	1 (6,2%)		23	3 (13%)	
> 72	16	2 (12,5%)		16	2 (12,5%)	
Raça						
CRD	19	3 (15,8%)	0,270	2	0 (0%)	0,855
SRD	84	7 (8,3%)		118	9 (7,6%)	
Tipo de criação						
Domiciliar	37	2 (5,4%)		1	0 (0%)	
Semidomiciliar	40	5 (12,5%)	0,539	115	9 (7,8%)	0,809
Solto	26	3 (11,5%)		4	0 (0%)	
Alimentação						
Ração	11	0 (0%)		1	0 (0%)	
Comida caseira	50	4 (8%)	0,308	105	8 (7,6%)	0,958
Ambos	42	6 (14,3%)		14	1 (7,1%)	
Contato com animais						
Não	20	0 (0%)	0,103*	4	0 (0%)	0,729
Sim	83	10(12%)		116	9 (7,8%)	
Contato com equídeos						
Não	101	9 (8,9%)	0,186*	105	7 (6,7%)	0,313
Sim	2	1 (50%)		15	2 (13,3%)	
Contato com silvestres						
Não	97	9 (9,3%)	0,467	120	9 (7,5%)	-
Sim	6	1 (16,7%)		0	0 (0%)	

Contato com felinos						
Não	63	7 (11,1%)	0,405	107	8 (7,5%)	0,657
Sim	40	3 (7,5%)		13	1 (7,7%)	
Contato com cães						
Não	32	0 (0%)	0,020*	24	2 (8,3%)	0,572
Sim	71	10(14,1%)		96	7 (7,3%)	
Contato com suínos						
Não	103	10 (9,7%)	-	112	9 (8%)	0,525
Sim	0	0 (0%)		8	0 (0%)	
Contato com pequenos ruminantes						
Não	102	10 (9,8%)	0,903	95	5 (5,3%)	0,089*
Sim	1	0 (0%)		25	4 (16%)	
Contato com bovinos						
Não	100	10 (9,7%)	0,734	96	7 (7,3%)	0,572
Sim	3	0 (0%)		24	2 (8,3%)	
Contato com aves						
Não	80	7 (8,8%)	0,393	44	2 (4,5%)	0,291
Sim	23	3 (13%)		76	7 (9,2%)	
Ambiente onde é criado						
Terra	24	2 (8,3%)		103	9 (8,7%)	
Cimento	22	1 (4,5%)	0,562	1	0 (0%)	0,448
Terra e Cimento	57	7 (12,3%)		16	0 (0%)	
Limpeza do local						
Não	30	4 (13,3%)	0,322	25	3 (12%)	0,280
Sim	73	6 (8,2%)		95	6 (6,3%)	
Frequência de limpeza						
Diária	47	5 (10,6%)		29	1 (3,4%)	
Semanal	23	1 (4,3%)	0,666	52	4 (7,7%)	0,701
Quinzenal	3	0 (0%)		14	1 (7,1%)	
Mensal	0	0 (0%)		0	0 (0%)	
Vacinação						
Nenhuma	29	1 (3,4%)		21	2 (9,5%)	
Apenas Antirrábica	60	5 (8,3%)	0,026*	98	7 (7,1%)	0,894
Apenas Viróses	2	0 (0%)		0	0 (0%)	
Ambas	12	4 (33,3%)		1	0 (0%)	
Vermifugação						
Não	64	6 (9,4%)	0,568	107	8 (7,5%)	0,287
Sim	39	4 (10,3%)		13	1 (7,7%)	
Presença de carrapatos						
Não	20	3 (15%)	0,301	120	9 (7,5%)	-
Sim	83	7 (8,4%)		0	0 (0%)	
Sempre morou em SJE						
Não	15	1 (6,7%)	0,555	8	1 (12,5%)	0,475
Sim	88	9 (10,2%)		112	8 (7,1%)	
Adotado						
Tutor	47	5 (10,6%)		101	7 (6,9%)	
Da Rua	20	2 (10%)	0,939	6	1 (16,7%)	0,679
De Outro	36	3(8,3%)		13	1 (7,7%)	
Cão de caça						

Não	89	9 (10,1%)	0,593	90	5 (5,6%)	0,158*
Sim	14	1 (7,1%)		30	4 (13,3%)	
Local onde dorme						
Dentro de casa	13	2 (15,4%)		2	0 (0%)	
No peridomicílio	69	5 (7,2%)	0,483	116	9 (7,8%)	0,846
Na rua	21	3 (14,3%)		2	0 (0%)	
Como passa a noite						
Amarrado	30	4 (13,3%)	0,322	84	5 (6%)	0,264
Solto	73	6 (8,2%)		36	4 (11,1%)	
Quando viaja leva o cão junto						
Não	99	8 (8,1%)	0,046*	120	9 (7,5%)	-
Sim	4	2 (50%)		0	0 (0,00%)	
Local de Viagem						
Nenhum	100	8 (8%)		120	9 (7,5%)	
Patos	2	2(100%)	0,000*	0	0 (0%)	-
Mãe D'água	1	0 (0%)		0	0 (0%)	
Fez uso de coleira repelente						
Não	103	10 (9,7%)	-	119	9 (7,6%)	0,925
Sim	0	0 (0%)		1	0 (0%)	

- *Variáveis usadas na regressão logística múltipla.

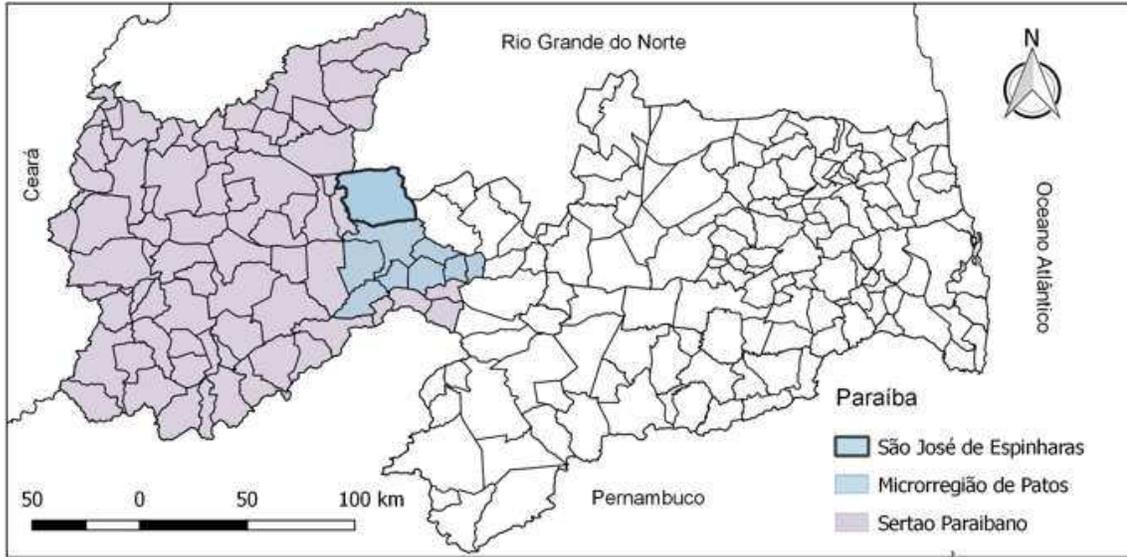


Figura 1

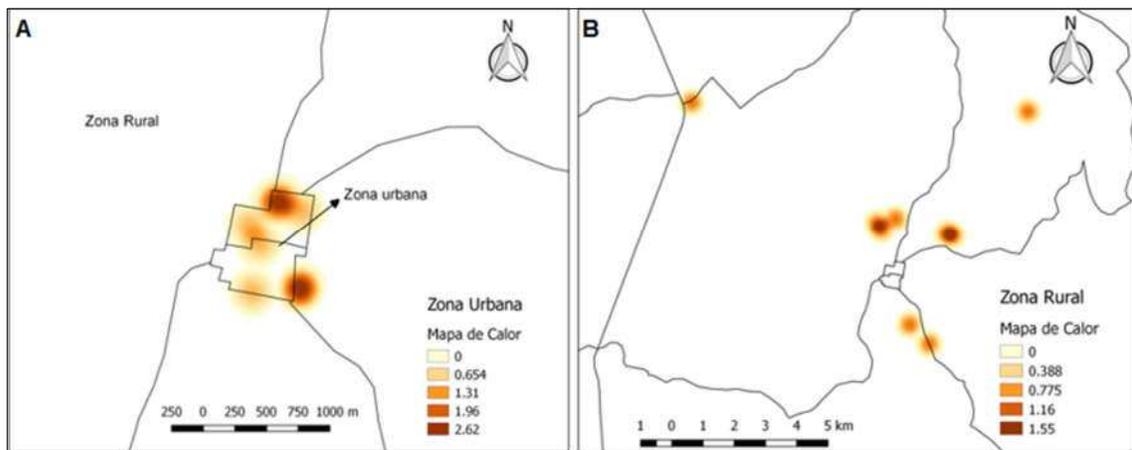


Figura 2



Figura 3



Figura 4

4 CONCLUSÕES GERAIS

A prevalência de leishmaniose visceral canina foi semelhante à observada em outras áreas endêmicas e sua presença foi observada tanto na zona urbana quanto rural de todos os municípios estudados.

No Agreste Paraibano, fatores relacionados ao cão e ao ambiente onde estes estão inseridos, como viver na zona rural e ter contato com outros animais, foram associados a um maior risco de infecção canina e devem ser levados em consideração na tomada de decisões para controle da zoonose.

Na cidade de São José de Espinharas foi possível confirmar o processo de urbanização e a influência que ações antrópicas, como o desmatamento, exercem na ocorrência da doença. O uso de técnicas de análise espacial se demonstrou eficiente na observação de áreas de risco, reafirmando sua importância para um melhor conhecimento da situação epidemiológica da leishmaniose visceral.

Sugere-se que os municípios implementem medidas de educação em saúde nas áreas endêmicas, alertando a população sobre o risco da manutenção de animais domésticos, tais como equídeos e pequenos ruminantes, nas proximidades das residências e incentivando a posse responsável de cães aos tutores, com o intuito de restringir as fontes de alimento para o vetor no peridomicílio.

As informações obtidas podem contribuir para um melhor planejamento de estratégias de controle da doença, priorizando os locais e os fatores identificados como de risco para infecção nos cães, impedindo o surgimento de casos humanos e caninos.

ANEXOS

ANEXO A – Questionário Epidemiológico

QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO – N° _____

I DADOS DO TUTOR	
1- Nome:	
2- Endereço:	Cidade:
3- Coordenadas:	
4- Telefone:	
5- Grau de escolaridade: () Analfabeto () 1º grau incompleto () 1º grau completo () 2º grau incompleto () 2º grau completo () 3º grau incompleto () 3º grau completo	
6- Renda familiar: () Menos de 2 salários mínimos () 2 a 4 () 5 a 6 () + 6	
II DADOS DO ANIMAL	
7- Nome:	8- Sexo: () Macho () Fêmea
9- Idade: () 6 – 12m () 13 – 24m () 25 – 48m () 4 – 6 anos () +6 anos	
10- Raça: () Sem raça definida () Com raça definida. Qual?	
III MANEJO	
11- Tipo de criação: () Domiciliar () Semidomiciliar () Solto	
12- Alimentação: () Ração comercial () Alimento caseiro () Ambos	
13- Tem contato com outros animais? () não () sim	
14 – Se sim, com quais? () Equídeos () Caprinos () Ovinos () Bovinos () Suínos () Aves () Felinos () Cães () Silvestres. Quais?	
15- Qual o ambiente onde o animal é criado? () Terra () Cimento () Terra/cimento	
16- É realizada limpeza ou desinfecção do local? () Não () Sim	
17- Com que frequência? () Diária () Semanal () Quinzenal () Mensal	
18- O animal tomou alguma vacina? () Não () Sim Qual? () Antirrábica () Víroses	
19- O animal já foi vermifugado? () Não () Sim Quando?	
20- O animal apresenta ou já apresentou carrapatos? Detalhar.	
21- O animal sempre morou com o tutor? () Não () Sim	
22- O animal foi adotado? () da rua () tinha outro tutor.	
23- O animal sempre morou nessa cidade? () Não () Sim Se NÃO: Local anterior? _____ Há quanto tempo mora aqui? _____	
24- O animal é usado para caça? () Não () Sim	
25- Aonde o animal dorme? () Dentro de casa () No Peridomicílio () Na rua	
26- Como passa a noite? () Amarrado () Solto	
27- Quando viaja, leva-o junto? () Não () Sim Há quanto tempo e Local?	
28- O animal faz/fez uso de coleiras repelentes? () Não () Sim	
- Aspecto geral do animal:	

ANEXO B – Normas do periódico Pesquisa Veterinária Brasileira

A submissão de artigos à revista “Pesquisa Veterinária Brasileira” (PVB) deve ser feita em Word, através do Sistema ScholarOne, link <<https://mc04.manuscriptcentral.com/pvb-scielo>>

A tramitação somente pode ter início se o seu artigo estiver rigorosamente dentro das normas de apresentação da revista, de acordo com as Instruções aos Autores, o modelo no site da revista e os últimos fascículos publicados (www.pvb.com.br). Na verificação de falhas de apresentação, o artigo será devolvido aos autores para as devidas correções.

Os autores podem submeter seus artigos em Inglês ou em Português, mas sempre com um Resumo em português. No caso de artigos aceitos, escritos em Português, estes serão traduzidos para o Inglês pela Editora Cubo; pois todos os artigos publicados na PVB serão em inglês. Para os artigos já submetidos em Inglês, os autores devem apresentar via ScholarOne um Certificado de Tradução de uma empresa habilitada ou de um Tradutor Nativo.

Os pagamentos da taxa de publicação (Paper Charge) serão cobrados na ocasião do envio da comunicação de aceite por e-mail:

- (1) Artigos submetidos em inglês, R\$ 1.500,00 (US\$ 480,00) por artigo;
- (2) Artigos submetidos em português, R\$ 2.000,00 (US\$ 960,00) por artigo, incluindo as despesas com a tradução.

O texto deve ser formatado, em todos os pormenores, de acordo com as normas de apresentação da revista (www.pvb.com.br).

Se o artigo for submetido fora das normas de apresentação, a tramitação somente ocorrerá após as devidas correções feitas pelo autor.

A PVB publica Artigos Originais, Artigos de Revisão Crítica e Tópicos de Interesse Geral; não publica artigos com a denominação de *Short Communications*.

Os Artigos Originais devem conter resultados de pesquisa ainda não publicados ou submetidos para outros periódicos.

Artigos de Revisão de Literatura, submetidos a convite, devem constituir-se de análise crítica, de assuntos na área de experiência dos autores, isto é, quando os autores já tiverem publicado anteriormente artigos sobre o assunto.

Os raros Tópicos de Interesse Geral devem constituir-se de assuntos de grande importância atual baseado na vasta experiência dos autores.

As opiniões e conceitos emitidos nos artigos submetidos são de responsabilidade dos autores. O Conselho Editorial da PVB, com a assistência da Assessoria Científica, pode sugerir ou solicitar modificações. Os artigos submetidos são avaliados pelos pares (peer review) e, aceitos para publicação com dois pareceres favoráveis, ou rejeitados por dois pareceres desfavoráveis.

Os direitos autorais dos artigos aceitos para publicação permanecem com os autores.

1. Os artigos devem ser organizados em TÍTULO, ABSTRACT, RESUMO, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO, CONCLUSÕES (de preferência os últimos três separadamente), Agradecimentos e REFERÊNCIAS:

a) O TÍTULO deve ser conciso e indicar o conteúdo do artigo; pormenores de identificação científica devem ser colocados em MATERIAL E MÉTODOS.

b) O(s) Autor(es) com numerosos primeiros nomes e sobrenomes, deve(m) padronizar o seu “nome para publicações científicas”, como por exemplo: Cláudio Severo Lombardo de Barros, escreve Cláudio S.L. Barros ou Barros C.S.L.; Franklin Riet-Correa Amaral escreve Franklin Riet-Correa ou Riet-Correa F. Os artigos devem ter no máximo 8 (oito) autores. O autor para correspondência deve ser um autor que garante o contato com o Conselho Editorial da PVB. Asteriscos de chamadas para o rodapé devem ser mais uma vez elevados (sobrescritos), para aparecerem maiores e mais nítidos.

c) O Cabeçalho do ABSTRACT deve conter, além dos nomes dos autores abreviados invertidos, o ano, o TÍTULO, o endereço postal do laboratório (inclusive o CEP) ou instituição principal onde foi desenvolvida a pesquisa. Endereços postais brasileiros não devem ser traduzidos para o inglês, mesmo em artigos escritos na língua inglesa, a fim de evitar dificuldade na postagem. Devem-se conferir os nomes dos autores do artigo e do Cabeçalho do Abstract para evitar discrepâncias.

d) O Rodapé da primeira página deve conter os endereços profissionais postais completos dos autores (evitando-se traços horizontais), na língua do país do respectivo autor (em português, espanhol, inglês) e seus e-mails; o e-mail do autor para correspondência deve ser sublinhado. Os sinais de chamada para os nomes dos autores devem ser números arábicos, colocados em sobrescrito, sem o uso automático de “Inserir nota de fim”, do Word (essas

chamadas devem ser contínuas por todo artigo, isto é, em todas as notas de rodapé das outras páginas).

e) O ABSTRACT deve ser uma versão do RESUMO, mas pode ser mais explicativo, seguido de “INDEX TERMS” que devem incluir termos do título, por não se tratar somente de “ADDITIONAL INDEX TERMS”.

f) O RESUMO deve conter o que foi feito e estudado, indicando a metodologia e dando os mais importantes resultados e conclusões, seguido dos “TERMOS DE INDEXAÇÃO” que incluem termos do título, por não se tratar somente de “TERMOS DE INDEXAÇÃO ADICIONAIS”.

g) A INTRODUÇÃO deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância principal e deve finalizar com a indicação do objetivo do artigo.

h) MATERIAL E MÉTODOS deve reunir a totalidade dos dados que permitam o desenvolvimento de trabalho semelhante por outros pesquisadores.

i) Em RESULTADOS devem ser apresentados concisamente os dados obtidos.

j) Na DISCUSSÃO devem ser confrontados os resultados diante da literatura. Não convém mencionar artigos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los.

k) CONCLUSÕES devem basear-se somente nos resultados obtidos e devem ser apresentados em diferentes parágrafos (uma Conclusão somente deve ser apresentada em parágrafo único).

l) Os Agradecimentos não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé; devem ser sucintos e colocados antes da Lista de Referências.

m) A Lista de REFERÊNCIAS deve incluir todas as citações apresentadas no texto e que tenham servido como fonte para consulta. A Lista deve ser ordenada alfabética e cronologicamente, pelo sobrenome do primeiro autor, seguido de todos os demais autores (em caixa alta e baixa), do ano, do título da publicação citada, e abreviado (por extenso em casos de dúvida) o nome do periódico. Sugerimos consultar exemplos dos últimos fascículos (www.pvb.com.br).

(Notem: (1) As Referências citadas no texto devem ser colocadas em ordem cronológica, mas alfabética tratando-se de referências do mesmo ano; (2) Quando utilizados programas de formatação (p.ex. Endnote X7), remover o fundo automático cinzento antes da submissão, para não dificultar eventuais correções.

2. Na elaboração do texto devem ser atendidas as seguintes normas:

a) Fonte Cambria, corpo 10, entrelinha simples; página formato A4, com 2cm de margens (superior, inferior, esquerda e direita), texto corrido em uma coluna justificada, com as Legendas das Figuras no final (logo após a Lista de REFERÊNCIAS) sem repetir as legendas junto com as Figuras.

b) ABSTRACT e RESUMO serão escritos em um só parágrafo corrente e não devem conter citações bibliográficas.

c) A redação dos artigos deve ser concisa, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal.

d) Os nomes científicos usados no manuscrito devem ser apresentados por extenso (p.ex. *Palicourea marcgravii*), no início de cada capítulo (TÍTULO, ABSTRACT, RESUMO, INTRODUÇÃO, etc.), quando aparecem pela primeira vez, seguido da abreviação do gênero (p.ex. *P. marcgravii*).

e) Nos títulos dos Quadros e nas Legendas das Figuras os nomes científicos devem ser apresentados por extenso, já que estes são independentes do texto.

f) No texto, os sinais de chamada para notas de rodapé devem ser números arábicos colocados em sobrescrito após a palavra ou frase que motivou a nota. Essa numeração será contínua por todo o artigo; as notas deverão ser lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo número de chamada, sem o uso do “Inserir nota de fim”, do Word. Notem: para evitar a separação em duas linhas, os numerais devem ser apresentados junto com suas unidades, ou seja, sem espaçamento, por exemplo: 100ppm, 10mm, 50cm, 18x10cm, (P<0,05), 15h; de conveniência quando seguida de letra alta (35 kg ou 35kg, 4 h ou 4h). A abreviação de número é “n^o” e não “n^o”; grau Celsius é “°C” e não “C”.

g) Os Quadros (não usar o termo Tabela) e as Figuras devem ser citados no texto, pelos respectivos números, em ordem crescente e devem ser submetidos separadamente do texto!

h) Siglas e abreviações das instituições, ao aparecerem pela primeira vez, deverão ser colocadas entre parênteses, após o nome da instituição por extenso;

i) Citações bibliográficas serão feitas pelo sistema “autor e ano”, p.ex. (Caldas 2005); artigos de até dois autores serão citados pelos nomes dos dois (Pedroso & Pimentel 2013); e com mais de dois, pelo nome do primeiro, seguido de “et al.”, mais o ano (Brito et al. 2015); se dois artigos não se distinguirem, a diferenciação será feita através do acréscimo de letra minúscula ao ano (Barros 2017a, 2017b). A ordem de citação deve ser cronológica (Barbosa et al. 2003, Armién et al. 2004).

j) Recomenda-se consultar na íntegra todos os artigos citados; se isto não for possível, deve-se colocar no texto a referência original (não consultada na íntegra) seguida do ano, p.ex. (Bancroft 1921); na Lista de Referências deve ser incluída a referência original como: Bancroft 1921. título. ... periódico. (Apud Suvarna & Layton 2013). A referência consultada também deve ser incluída na Lista de Referências.

k) O uso de “comunicação pessoal” e de “dados não publicados” deve ser feito apenas em casos excepcionais; no texto com citação de Nome e Ano, e na Lista de Referências como: Barbosa 2016. Comunicação pessoal (Universidade Federal do Pará, campus Castanhal).

l) As Legendas das Figuras devem conter informações suficientes para sua compreensão (independente do texto); e devem ser precedidas de “Fig.” seguida do número sem espaço, p.ex. “Fig.8. ...”. Para elaboração das legendas sugerimos consultar exemplos nos últimos fascículos (www.pvb.com.br). (Notem: Na legenda de Figuras compostas deve-se colocar a letra de cada “subfigura” em negrito com parênteses claros antes do texto correspondente e devem ser mencionados letras ou sinais, que estão dentro de cada “subfigura”, em parênteses e claros após o respectivo texto da legenda.)

m) O Título dos Quadros devem ser em negrito, sem ponto, e a “garganta” (título das colunas) deve ser escrita em claro e separada por dois traços longos horizontais; o Título dos Quadros e da “garganta” devem ser escritas em caixa alta e baixa. Os Quadros (não usem o termo Tabela) devem conter os resultados mais relevantes. Não há traços verticais, nem fundos cinzentos; excepcionalmente pode conter traços horizontais. Os sinais de chamada serão alfabéticos, recomeçando, com “a” em cada Quadro. As chamadas de rodapé deverão ser lançadas logo abaixo do Quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço curto à esquerda; e devem evitar números arábicos. Os títulos não têm ponto no final, ao passo que as legendas terminam com um ponto. Os Quadros devem ser apresentados em Word e ser editáveis, a fim de inserirmos eventuais alterações de apresentação, dentro das normas da revista.

n) Dados complexos devem ser expressos por Gráficos (devem ser chamados de Figuras). Os gráficos devem ser produzidos em 2D, sem fundo e sem linhas horizontais.

3. Todas as referências citadas no texto devem ser incluídas na Lista de Referências e vice-versa; na revisão final do artigo pelos autores, antes da submissão, isto deve ser conferido criteriosamente, para evitar discrepâncias (o sistema ScholarOne bloqueia automaticamente artigos com discrepâncias).

Exemplos de Referências

– Artigos publicados em periódicos:

Pavarini S.P., Soares M.P., Bandarra P.M., Gomes D.C., Bandinelli M.B., Cruz C.E.F. & Driemeier D. 2011. Mortes súbitas causadas por *Amorimia exotropa* (Malpighiaceae) no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 31(4):291-296.

Hooiveld M., Smit L.A., Wouters I.M., Van Dijk C.E., Spreuwenberg P., Heederik D.J. & Yzermans C.J. 2016. Doctor-diagnosed health problems in a region with a high density of concentrated animal feeding operations: a cross-sectional study. *Environ. Health* 17:15-24.

(Notem: Os iniciais dos autores devem ser colocados sem espaço. O sinal “&” é usado para separar o penúltimo do último autor. As primeiras letras das palavras do título de artigos publicados em periódicos científicos devem ser de preferência minúsculas. A palavra “Revista” deve ser abreviada como “Revta” em diferença a “Rev.”, do inglês “Review”. Deve-se indicar o número do respectivo volume do periódico e, se possível, também do fascículo. Somente abreviações tem um ponto, exceto as que terminam com a última letra da palavra em extenso. O traço entre as páginas é curto (-) e não comprido. Não devem ser usados “pontovírgulas” (;) em lugar de vírgulas.

– Livros:

Tokarnia C.H., Brito M.F., Barbosa J.D., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 2012. *Plantas Tóxicas do Brasil para Animais de Produção*. 2ª ed. Helianthus, Rio de Janeiro, p.305-348.

Marsh P. & Martin M. 1992. *Oral Microbiology*. 3rd ed. Chapman and Hall, London, p.167-196.

(Notem: A primeira letra de termos do título de livros deve ser maiúscula. Devem ser mencionadas as páginas que foram consultadas, em vez do total de páginas do livro).

– Capítulos de livros:

Barros C.S.L. 2007. Doenças víricas: leucose bovina, p.159-169. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R.J. (Eds), Doenças de Ruminantes e Equídeos. Vol.1. 3ª ed. Pallotti, Santa Maria.

Tokarnia C.H., Brito M.F., Barbosa J.D., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 2012. Plantas que afetam o funcionamento do coração, p.27-94. In: Ibid. (Eds), Plantas Tóxicas do Brasil para Animais de Produção. 2ª ed. Helianthus, Rio de Janeiro.

(Notem: As primeiras letras das palavras do título de capítulos de livros são minúsculas, mas as de livros são maiúsculas.)

– Dissertações e Teses:

Silva R.M.M. 2016. Prevalência, identificação e distribuição das lesões abscedativas em caprinos e ovinos abatidos em um matadouro frigorífico no Estado da Bahia. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas. 56p.

Sant'Ana V.A.C. 2004. Proteinograma do leite de vacas: padrões e variabilidade. Tese de Doutorado, Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP. 161p.

(Notem: (1) Deve-se evitar se referir a Dissertações ou Teses em vez de aos artigos baseados nas mesmas e publicados em periódicos científicos que são de mais fácil acesso. (2) Não deve-se tentar de publicar o texto de Dissertação ou Tese praticamente na íntegra sem escrever um artigo conciso de seus resultados).

– Resumos publicados em eventos:

Mendonça F.S., Almeida V.M., Albuquerque R.F., Chaves H.A.S., Silva Filho G.B., Braga T.C., Lemos B.O. & Riet Correa F. 2016. Paralisia laríngea associada à deficiência de cobre em caprinos no semiárido de Pernambuco (IX Endivet, Salvador, BA). Pesq. Vet. Bras. 36(Supl.2):50-51. (Resumo)

Pierezan F., Lemos R.A.A., Rech R.R., Rissi D.R., Kommers G.D., Cortada V.C.L.M., Mori A.E. & Barros C.S.L. 2007. Raiva em equinos. Anais XIII Encontro Nacional de Patologia Veterinária, Campo Grande, MS, p.145-146. (Resumo)

(Note: Evitar na consulta o uso de Resumos ao invés de artigos na íntegra!).
