

# 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

ANA LÚCIA ABREU-SILVA<sup>1</sup>; TIAGO B. LIMA <sup>2</sup>; AURICÉLIO A. DE MACEDO<sup>2</sup>; FELIPE DE JESUS MORAES-JÚNIOR<sup>2</sup>; ELAINE L. DIAS<sup>3</sup>; ZULMIRA DA S. BATISTA<sup>3</sup>; KATIA DA S. CALABRESE<sup>4</sup>; JORGE LUIZ P. MORAES<sup>5</sup>; JOSÉ MANUEL M. REBÊLO<sup>5</sup>; RITA MARIA S.N. DE C. GUERRA<sup>1</sup>

**ABSTRACT:-** ABREU-SILVA, A.L.; LIMA, T.B.; DE MACEDO, AA.; MORAES-JÚNIOR, F. DE J.; DIAS, E.L.; BATISTA, Z. DA S.; CALABRESE, K. DA S.; MORAES, J.L.P.; REBÊLO, J.M.M.; GUERRA, R.M.S.N. DE C. [Seroprevalence, clinical and biochemical data of dogs naturally infected by *Leishmania* and phlebotominae sandfly fauna in an endemic area in São Luis Island, Maranhão State, Brazil]. 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, supl. 1, p. 197-203, 2008. Departamento de Patologia, Universidade Estadual do Maranhão, Cidade Universitária Paulo VI, Caixa Postal 09, Tirirical, São Luís, MA 65055-970, Brasil. E-mail: anabreu@ioc.fiocruz.br

The aim of this study was to determine the seroprevalence, clinical and biochemical profile of *Leishmania chagasi* infection in dogs naturally infected and identify the phlebotominae fauna in an endemic area of São Luis Island. In this present study, 62 household mongrel dogs were sampled for antibodies anti-*Leishmania*. The seroprevalence was 51.61%. In the clinical evaluation, 36.68% dogs were symptomatic, 38.41% were oligosymptomatic and 26.13% were asymptomatic. The most frequent signs were onychogryphosis and lymphadenomegaly. In 29.41% animals were observed anemia. In the biochemical analysis hepatic function showed changes in relation to alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST). Urea values were higher than the references ones for canine specie. The following phlebotominae sandflies were identified: *Lutzomyia longipalpis* (86.9%), *L. evandroi* (9.6%), *L. choti* (2.1%), *L. umbratilis* (0.7%) e *L. whitmani* (0.7%).

**KEY WORDS:** Visceral Leishmaniasis, dog, hematology, biochemical, Phlebotominae.

## RESUMO

Objetivou-se determinar a soroprevalência, estudar os aspectos clínicos e bioquímicos da infecção por *Leishmania chagasi* em cães naturalmente infectados e conhecer a fauna de flebotomíneos em uma área endêmica na Ilha de São Luís. No presente estudo foi amostrado 62 cães domiciliados sem raça definida para a pesquisa de anticorpos-anti *Leishmania*. De-

tectou-se a soroprevalência de 51,61%. Na avaliação clínica, observou-se que 36,68% dos cães eram polissintomáticos, 38,41% oligossintomáticos e 26,13% assintomáticos. Dentre as manifestações clínicas mais evidentes, destacou-se onicogribose e linfadenomegalia. Anemia foi constatada, em média, em 29,41% dos animais. Nas análises bioquímicas a função hepática revelou-se alterada com relação a alaninoaminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST). Os valores de uréia foram maiores que os de referência para a espécie canina. As seguintes espécies de flebotomíneos foram identificadas: *Lutzomyia longipalpis* (86,9%), *L. evandroi* (9,6%), *L. choti* (2,1%), *L. umbratilis* (0,7%) e *L. whitmani* (0,7%).

**PALAVRAS-CHAVE:** Leishmaniose visceral, cão, hematologia, bioquímica, Phlebotominae.

<sup>1</sup> Departamento de Patologia, Universidade Estadual do Maranhão, Cidade Universitária Paulo VI, Caixa Postal 09, Tirirical. São Luís, MA 65055-970, Brasil. E-mail: anabreu@ioc.fiocruz.br,

<sup>2</sup> Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, MA. Bolsista PIBIC/CNPq.

<sup>3</sup> Médica Veterinária.

<sup>4</sup> Departamento de Protozoologia, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ.

<sup>5</sup> Departamento de Patologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA.

## INTRODUÇÃO

O agente etiológico da leishmaniose visceral é um protozoário da família Trypanosomatidae, gênero *Leishmania*, com três espécies envolvidas dependendo da região geográfica: *Leishmania (Leishmania) donovani*, na Ásia e África; *Leishmania (Leishmania) infantum* na Ásia, Europa e África, e *Leishmania (Leishmania) chagasi* nas Américas (incluindo o Brasil), onde a doença é denominada Leishmaniose Visceral Americana (LVA) ou Calazar Neotropical (SUCEN, 2003).

A transmissão da LVA entre os hospedeiros vertebrados ocorre através da picada do flebotômíneo hematófago *Lutzomyia longipalpis*. Esse inseto tem ampla distribuição já tendo sido registrado nas Américas do Norte, Central e do Sul (YOUNG; DUNCAN, 1994). São, originalmente, encontrados em florestas, mas devido à devastação desse ambiente adaptaram-se a áreas rurais e urbanas, consequentemente são abundantes em abrigos de animais.

Os hospedeiros vertebrados são os canídeos silvestres, marsupiais e o cão doméstico (RIBEIRO, 1997). No ambiente doméstico, o cão é considerado o principal reservatório epidemiológico, o que gera dificuldades no controle da doença (SANTA ROSA; OLIVEIRA, 1997; CARDOSO; CABRAL, 1998; CAMPINO, 2002).

A Leishmaniose Visceral Canina, também chamada de calazar, pode ser considerada uma doença imunomediada devido à capacidade do parasita em modular o sistema imunológico do hospedeiro (FERRER et al., 1991). Dependendo da imunocompetência do hospedeiro, os sinais clínicos tornam-se evidentes dentro de um período que varia de três meses a vários anos (FERRER et al., 1995).

As manifestações clínicas da doença no cão e no homem são similares e apresentam sinais inespecíficos, como febre irregular por longos períodos, anemia, perda progressiva do peso e caquexia em seu estágio final (FERRER et al., 1991). Após a infecção, com a progressão da doença, muitos cães exibem sinais clínicos como, alopecia, esfoliação cutânea, úlceras na pele, linfadenopatia, emagrecimento, alterações hematológicas, aumento sérico das atividades das enzimas hepáticas e elevação da uréia e creatinina (CIARAMELLA et al., 1997). As úlceras cutâneas aparecem em qualquer sítio, mas sua maior incidência ocorre nas zonas ósseas salientes, na face, no plano nasal, no pavilhão auricular e na região interdigital (MARZOCHI et al., 1985). Observa-se também onicogribose, associada à presença do parasita estimulando a matriz ungueal (CIARAMELLA et al., 1997).

O hemograma fornece subsídios importantes quanto à resposta orgânica do cão portador de *Leishmania*, particularmente, quanto à anemia. Já a associação de anemia, hiperproteinemia e monocitose, quando detectada em cães habitantes de áreas enzoóticas, sugerem infecção por *L. (L.) chagasi* (FEITOSA et al., 2003).

A leishmaniose canina representa uma situação epidemiológica onde infecções nem sempre significam doença ativa, os casos subclínicos estão constantemente relacionados às áreas endêmicas e, comumente, não existem estratégias de

controle efetivas. A introdução de novas técnicas de diagnóstico tem possibilitado determinar o nível real da infecção, embora se necessite, ainda, de trabalhos adicionais (imunológico e epidemiológico), com o objetivo de entender a base para progressão ou resistência da doença (MORENO; ALVAR, 2002).

Objetivou-se determinar a soroprevalência, estudar os aspectos clínicos e bioquímicos da infecção por *L. chagasi* em cães naturalmente e conhecer a fauna de flebotômíneos em uma área endêmica na Ilha de São Luís.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Área de Estudo

A Vila Bom Viver se localiza no Município de Raposa, uma área de invasão, com uma população estimada em 4.307 habitantes distribuídos em 873 domicílios. A vegetação é constituída principalmente por manguezais, vegetação rasteira e capoeira. O clima é tropical mesotérmico e úmido, com duas estações bem definidas: a seca e a chuvosa. A principal atividade econômica da população é a pesca e o artesanato.

### Avaliação clínica, sorológica e bioquímica

Realizou-se um censo para determinar a população de cães da localidade, de acordo com a metodologia descrita por Callegari-Jacques (2003), calculou-se o tamanho mínimo da amostra a partir dos resultados de Garcia et al. (2004), que determinaram a prevalência de LVC na Vila Bom Viver. Selecionou-se, aleatoriamente, 34% da população canina, representada por 62 animais.

No estudo clínico, adotou-se a classificação de Abranches et al. (1991) modificada por Molina et al. (1994).

Dos animais submetidos ao exame clínico, foram coletados 5mL de sangue, sendo 2mL colhidos com anticoagulante (EDTA) para realização de hemograma e 3 mL sem anticoagulante para a sorologia e provas bioquímicas.

Determinou-se os títulos dos anticorpos (IgG) anti-*Leishmania* por meio da técnica de reação imunofluorescência indireta (RIFI), usando o kit de imunofluorescência produzido e comercializado por Biomanguinhos/FIOCRUZ (Fundação Oswaldo Cruz). O hemograma foi realizado conforme metodologia descrita por Garcia-Navarro e Pachaly (1994). As funções hepática e renal foram realizadas, utilizando-se kits comerciais para determinar as dosagens de alaninoaminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST), uréia e creatinina.

O exame parasitológico para identificação das formas amastigotas foi realizado por meio da técnica de punção aspirativa de medula, no qual, os animais foram previamente sedados com Acepromazina, via intramuscular, 1mg/kg de peso corporal. Com o material obtido confeccionou-se esfregaços, posteriormente, corados pelo Panótico.

### Captura e identificação dos flebotômíneos

Armadilhas luminosas tipo CDC foram colocadas em ambiente de intra e peridomicílio no período de estiagem e

chuvoso para a captura de flebotomíneos. Foram escolhidos domicílios que apresentaram cães soropositivos e negativos ao teste de RIFI. Os espécimes foram identificados de acordo com Young; Duncan (1994).

### Análise estatística

Teste estatístico (Qui-quadrado) foi utilizado para analisar as diferenças entre as proporções de machos e fêmeas dos flebotomíneos e entre os ambientes de coleta. As diferenças foram consideradas significativas quando a probabilidade (p) do erro foi inferior a 5% ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de 62 amostras sanguíneas analisadas para detecção da infecção por *L. (L.) chagasi*, 32 (51,61%) foram reatores. Resultados que se aproximam aos de Silva et al. (2001) em Belo Horizonte, MG, 64,6%, contudo outros autores obtiveram valores mais baixos, como Braga et al. (1998), no Ceará, Cabrera et al. (2003), em Barra de Guaratiba, RJ. Em trabalhos realizados por Guimarães et al. (2005) em duas localidades de São José de Ribamar, a prevalência foi de 25% e 21%, respectivamente, ressaltam-se que ambos municípios se localizam na ilha de São Luís, estado do Maranhão.

Os sinais clínicos mais frequentes foram onicogribose (84,84%), linfadenomegalia (78,78%), caquexia (57,57%), alopecia (45,45%), descamação furfurácea (36,36%), úlceras (36,36%) e palidez de mucosa oral e conjuntival. Estes sinais são os comumente observados em cães naturalmente infectados por *L. (L.) chagasi* (FEITOSA et al., 2000, ALMEIDA et al., 2005).

A análise da avaliação clínica revelou que 18 cães (56,25%) eram polissintomáticos; nove (28,125%) assintomáticos e seis (18,75%) oligossintomáticos. Conforme relatos precedentes de estudos soroepidemiológicos (ABRANCHES et al., 1991), uma proporção elevada de cães soropositivos não apresenta nenhum sinal clínico de LVC. Esse fato tem particular importância, pois os cães assintomáticos são considerados os principais reservatórios da infecção causada pela *L. (L.) infantum*. (ALVAR et al., 2004).

Com relação às análises hematológicas e bioquímicas, observou-se que 11 dos 32 animais reatores (34,37%) apresentaram anemia. Desses, em 72,73% dos casos, a anemia foi do tipo normocítica hipocrômica. Observou-se leucocitose associada à neutrofilia em 25% dos casos, sendo que a leucocitose com desvio à esquerda, determinada por uma elevação no número de bastonetes, só foi observada em 12,5% dos casos. Ocorreu linfocitose em 13 dos 32 animais (40,62%) e eosinofilia em 15,62% dos casos (15 de 32). Foi observada hiperproteinemia em 81,25% dos casos (26 cães). Nas análises bioquímicas as funções hepáticas revelaram-se aumentadas com relação à AST e ALT. Os valores de uréia foram maiores que os de referência para a espécie canina. Os dados referentes aos valores hematológicos e bioquímicos encontram-se sumarizados na Tabela 1.

Vários autores reportaram que a anemia é um achado cons-

Tabela 1. Média, Desvio-Padrão e Amplitude dos valores do hemograma, proteína plasmática total (PPT), uréia, creatinina, ALT e AST realizados em cães naturalmente infectados na Vila Bom Viver, Raposa, MA.

Exame	Média	Desvio-Padrão	Mínimo/Máximo
Eritrócitos ( $\times 10^6/\mu\text{L}$ )	5,94 (5,5-8,5)*	2,62	3,6-7,8
Hemoglobina (g/dL)	10,55 (12-28)*	14,69	7,2-15,7
Hematócrito (%)	36,05 (37-55)*	58,31	21,0-46,0
VCM (fL)	63,61 (60-77)*	39,63	49,18-66,67
CHCM (%)	29,14 (31-36)*	23,91	16,3-35,71
Leucócitos ( $\mu\text{L}$ )	13175,00 (6-17 mil)*	19533,89	5950-29000
Bastonetes ( $\mu\text{L}$ )	4,34 (0-3)*	6,01	0-9
Segmentados ( $\mu\text{L}$ )	54,94 (60-77)*	102,11	24-79
Linfócitos ( $\mu\text{L}$ )	31,16 (12-30)*	57,62	9-64
Monócitos ( $\mu\text{L}$ )	3,97 (3-10)*	6,46	0-9
Eosinófilos ( $\mu\text{L}$ )	7,94 (2-10)*	5,55	0-28
PPT (g/dL)	7,94 (7)*	2,69	5-9,6
Uréia (mg/dL)	28,14 (5-28)*	62,73	0,9-75,39
Creatinina (mg/dL)	1,29 (0,5-1,5)*	0,33	0,37-3,69
ALT (U/L)	51,62 (6,2+/-13)*	306,74	4,5-190,9
AST (U/L)	25,83 (4,8+/-24)*	59,02	2-60

\* Valores de referência do hemograma e provas bioquímicas para a espécie canina.

tante em cães com leishmaniose visceral canina (SANCHEZ et al., 1984; FERRER, 1992; GASCON, 1994; BINHAZIM et al., 1993; KEENAN et al., 1984; FEITOSA et al., 2003), outros (DENEROLLE, 1996; CABASSU et al., 1988; GIAUFFRET et al., 1976; AMUSATEGUI et al., 2003), obtiveram uma percentagem relativamente baixa (20-30%), corroborando com os dados desse trabalho.

Ciaramella et al. (1997), Feitosa et al. (2003), Keenan et al. (1984) e Abranches et al. (1991) reportaram que a anemia normocítica normocrômica é a mais frequentemente encontrada, diferindo de nossos resultados, onde, em média, 69,7% dos casos a anemia foi do tipo normocítica hipocrômica.

O leucograma revelou leucocitose com neutrofilia, em média em 23,37% dos casos, achado semelhante ao de Feitosa et al. (2003), entretanto, Amusategui et al. (2003), que não observaram alterações no leucograma.

Ocorreu linfocitose, em média, em 52,92% dos casos, concordando com os achados de Bourdoiseau et al. (1997) e Feitosa et al. (2003), embora Amusategui et al. (2003) revelaram não encontrar alterações significativas no perfil linfocitário. Alvar et al. (2004) demonstraram que durante a fase sintomática da LVC, há um decréscimo na contagem de leucócitos devido à diminuição de monócitos, eosinófilos e principalmente, da população de linfócitos, sendo esta última um dos achados mais relevantes. Por outro lado, Bourdoiseau et al. (1997) revelaram que na fase inicial da doença ocorre leucocitose associada à neutrofilia, enquanto que nos estágios mais avançados, há leucopenia associada à linfopenia.

Foi observada eosinofilia, em média, em 31,72%, diferindo dos resultados obtidos por Feitosa et al. (2003). Oliveira e Poli Neto (2004) e Duncan e Prasse, (1982) relataram que, ocasionalmente, pode ocorrer eosinofilia em pacientes sensi-

bilizados que sofrem infestação parasitária. Na área estudada, os cães apresentavam infestação por ectoparasitas (carra-patos, pulgas e piolhos).

A hiperproteinemia foi um achado observado em média, em 88,45% dos casos, percentual alto quando se compara aos resultados de Feitosa et al. (2003). Um achado frequente em cães com leishmaniose visceral é o aumento do nível de proteína plasmática total pela ativação policlonal de linfócitos B e, a consequente produção de anticorpos (CIARAMELLA et al., 1997; FERRER et al., 1999).

As análises bioquímicas revelaram uma alteração renal, já que houve uma elevação nos valores da média de uréia, embora a média de creatinina tenha se mantido normal, embora Coutinho et al. (2005) em um estudo clínico realizado com cães naturalmente infectados não encontraram alterações renais significativas, já que as taxas de uréia e creatinina se mantiveram normais.

As funções hepáticas estavam aumentadas, uma vez que a média das taxas de AST, foi de 25,83 mg/dL e a de ALT foi de 51,62 mg/dL (Tabela 1), diferindo dos dados obtidos por Amusatogui et al. (2003). A maioria dos cães apresentou tanto lesões hepáticas quanto renais. A insuficiência renal aguda ou crônica pode estar relacionada com a deposição dos imunocomplexos em tecidos renais, constituindo uma importante manifestação patológica, dadas as suas conseqüências irreversíveis e fatais (BENDERITTER et al., 1988; NIETO et al., 1992; MARY et al., 1993).

O exame parasitológico foi negativo em todas as amostras analisadas, concordando com os resultados obtidos por Andrade et al. (2002) que não detectaram o parasita em aspirados de medula óssea nem em exames histopatológicos realizados com amostras de medula óssea, baço e linfonodos de cães adultos infectados. Por outro lado, Silva et al. (2001) relataram uma alta carga parasitária tanto em pele quanto em medula óssea.

Um total de 145 flebotomíneos foram capturados das seguintes espécies: *Lutzomyia longipalpis* (86,9%), *L. evandroi* (9,6%), *L. choti* (2,1%), *L. umbratilis* (0,7%) e *L. whitmani* (0,7%). Os dados referentes à fauna de flebotomíneos encontram-se discriminados na Tabela 2.

Estudos realizados em outros estados do Brasil também registraram *L. longipalpis* como a espécie mais prevalente em áreas de transmissão de LVC, tais como Rio Grande do Norte

(XIMENES et al., 1999), Maranhão (REBÊLO, 2001, ARAÚJO et al., 2000), Goiás (MARTINS et al., 2002) e Piauí (ANDRADE FILHO et al., 2001), Mato Grosso (MISSAWA; DIAS, 2007). Em Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro, Cabreira et al. (2003) obtiveram resultado diferente sendo *L. intermedia* a mais prevalente. Embora *L. longipalpis* estivesse presente em menor número de espécimes nesse estudo, os autores inferem que sua presença em ambiente de intra e peridomicílio indicam a possibilidade de novos casos em cães e em humanos devido à alta soroprevalência (51,61%) na localidade estudada.

Em relação à diversidade de espécies, os dados obtidos no presente estudo diferem daqueles observados na literatura uma vez que somente cinco espécies foram identificadas e, exceto para *L. longipalpis* as outras ocorreram em baixos percentuais que somados correspondem a 13,1%. Também trabalhando no município da Raposa, Araújo et al. (2000) ao estudarem a fauna de flebotomíneos identificaram 11 espécies diferentes sendo *L. longipalpis* a mais frequente. *L. evandroi*, *L. umbratilis* e *L. whitmani* ocorreram em menor número e *L. choti* não foi capturada. Fato igualmente relatado nos estados do Rio Grande do Norte (XIMENES et al., 1999), Piauí (ANDRADE FILHO et al., 2001) e Goiás (MARTINS et al., 2002), Mato Grosso (MISSAWA; DIAS, 2007) para essa última espécie. Pode-se observar que apesar da fauna de flebotomíneos ser diferente considerando-se a diversidade de espécies assim como a frequência de ocorrência, *L. longipalpis* é a mais prevalente em áreas de transmissão de LVC.

A análise estatística demonstrou não haver diferença entre os dois períodos do ano amostrados ( $P>0,05$ ). Este resultado está em desacordo com os apresentados por Araújo et al. (2000) e Rebêlo (2001) que verificaram diferença estatística significativa, com as maiores concentrações de espécimes no período chuvoso.

Houve diferença estatisticamente significativa ( $P>0,05$ ) entre o número de flebotomíneos no peridomicílio (115/79,31%) em relação ao intradomicílio (30/20,68). Considerando-se o sexo dos flebotomíneos, observou-se que houve predominância de machos (108/74,48%) em relação às fêmeas (37/25,51%) havendo diferença estatística significativa ( $P>0,05$ ) mesmo considerando-se o período do ano. Este fato também foi observado para *L. longipalpis* (Tabela 2).

Dados obtidos por outros autores (ARAÚJO et al., 2000; REBÊLO, 2001; MARTINS et al., 2002; MISSAWA; DIAS,

Tabela 2. Espécies de *Lutzomyia* capturadas na Vila Bom Viver, ilha de São Luis, estado do Maranhão.

Ambiente Sexo	Período de estiagem				Período chuvoso				Total	
	Intradomicílio		Peridomicílio		Intradomicílio		Peridomicílio		Número	%
	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea		
<i>Lutzomyia longipalpis</i>	07	07	41	11	06	05	40	09	126	86,9
<i>L. evandroi</i>	01	-	04	03	01	02	03	-	14	9,6
<i>L. choti</i>	-	-	03	-	-	-	-	-	03	2,1
<i>L. umbratilis</i>	01	-	-	-	-	-	-	-	01	0,7
<i>L. whitmani</i>	-	-	01	-	-	-	-	-	01	0,7
Total	09	07	49	14	07	07	43	09	145	100



2007) estão de acordo com os aqui apresentados. A predominância de *L. longipalpis* especialmente em ambiente de peridomicílio tem importância epidemiológica, pois de acordo com Ximenes et al. (1999) animais domésticos e silvestres presentes no ambiente peridomiciliar provavelmente atraem um grande número de flebotomíneos, contribuindo dessa forma para o aumento da densidade do vetor em determinadas áreas. As criações desses animais, aliada às baixas condições de higiene e saneamento criam um habitat favorável à agregação do vetor e de outras espécies de flebotomíneos. Na área de estudo observou-se a presença de outros animais domésticos tais como gatos, cavalos, porcos e galinhas. Dias et al. (2003) realizaram uma pesquisa na mesma área e detectaram além dos animais acima mencionados, os seguintes animais sinantrópicos: marsupiais, roedores, morcegos, guaxinim, raposas, cobras e sapos.

A Vila Bom Viver reúne condições de transmissão ativa de leishmaniose visceral, tendo em vista a alta soroprevalência e a presença de *L. longipalpis* como a espécie de flebotomíneo mais prevalente na área. As análises bioquímicas indicaram alterações renais e hepáticas nos animais reagentes.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRANCHES, P.; SILVA-PEREIRA, M.C.D.; CONCEIÇÃO SILVA, F.M.; SANTOS GOMES, G.M.; JANZ, J.G. Canine leishmaniasis: pathological and ecological factors influencing transmission of infection. *Journal of Parasitology*, v. 77, n.4, p. 557-561, 1991.
- ALMEIDA, M.A.; JESUS, E.E.; SOUSA-ATTA, M.L.; ALVES, L.C.; BERNE, M.E.; ATTA, A.M. Antileishmanial antibody profile in dogs naturally infected with *Leishmania chagasi*. *Veterinary Immunology Immunopathology*, v. 106, n.1-2, p. 151-158, 2005.
- ALVAR, J.; CANAVATE, C.; MOLINA, R.; MORENO, J.; NIETO, J. Canine leishmaniasis. *Advances in Parasitology*, v. 57, n.1, p. 1-88, 2004.
- AMUSATEGUI, I.; SAINTZ, A.; RODRIGUEZ, F.; TESOURO, M.A. Distribution and relationships between clinical and biopathological parameters in canine leishmaniasis. *European Journal of Epidemiology*, v. 18, n.2, p. 147-156p, 2003.
- ANDRADE, H.M.; DE TOLEDO, V.P.C.P.; MARQUES, M.J.; FRANÇA-SILVA, J.C.; TAFURI, W.L.; MAYRINK, W.; GENARO, O. *Leishmania* (*Leishmania*) *chagasi* is not vertically transmitted in dogs. *Veterinary Parasitology*, v.103, n.1-2, p. 71-81, 2002.
- ANDRADE-FILHO, J. D.; SILVA, A. C.; FALÇÃO, A. L. Phlebotominae sand flies in the state of Piauí (Diptera: Psychodidae: phlebotominae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 96, n. 8, p. 1085-1087, 2001.
- ARAÚJO, J.A.C.; RÊBELO, J.M.M.; CARVALHO, M.L.; BARROS, V.L.L. Composição dos flebotomíneos (Díptera, Psychodidae) do Município de Raposa-MA, Brasil. Área endêmica de Leishmanioses. *Entomology y Vectores*, v. 7, n.1, p. 33-47, 2000.
- BENDERITTER, T.; CASANOVA, P.; NASHKIDACHIVILI, L.; QUILICI, M. Glomerulonephritis in dogs with canine leishmaniasis. *Annal Tropical Medical Parasitology*, v. 82, n.4, p. 335-341, 1988.
- BIANHAZIM, A.A.; CHAPMAN, W.L.; SHIN S.S.; HANSON, W.L. Determination of virulence and pathogenesis of a canine strain of *Leishmania infantum* in hamsters and dogs. *American Journal Veterinary Research*, v. 54, n.1, p. 113-120, 1993.
- BOURDOISEAU, G.; BONNEFONT, C.; MAGNOL, J.P.; SAINT-ANDRÉ, I.; CHABANNE, L. Lymphocyte subset abnormalities in canine leishmaniasis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v.56, n 3-4, p. 345-351, 1997.
- BRAGA, M.D.M.; COELHO, I.C.B.; POMPEU, M.M.L.; EVANS, T.G.; MACAULLIFE, I.T.; TEIXEIRA, M.J.; DE OLIVEIRA-LIMA, W. Controle do Calazar canino: comparação dos resultados de um programa de eliminação rápida de cães sororreagentes por ensaio imuno-enzimático com outro de eliminação tardia de cães sororreagentes por teste de imunofluorescência indireta de eluato de papel filtro. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 31, n. 5, p. 419-424, 1998.
- CABASSU, J.P.; GERVAIS, P.; SEGURET, N.; ROUSSET-ROUVIERE, B. Bilan biologique chez le chien leishmanien. *Pratique Médecine Chirurgie Animal Compagnie*, v. 23, n.1, p. 35-42, 1988.
- CABRERA, M.A.A.; PAULA, A.A.; CAMACHO, L.A.B.; MARZOCHI, M.C.A.; XAVIER, S.C.; SILVA, A.V.M.; JANSEN, A.M.A. Canine visceral Leishmaniasis in Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro, Brazil: assessment of risks factors. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 45, n.1, p. 79-83, 2003.
- CALLEGARI-JACQUES, S.M. *Bioestatística: Princípios e Aplicações*. Porto Alegre: Artmed, 2003.264p.
- CAMPINO, L.M. Canine reservoir and leishmaniasis: epidemiology and disease. In FARREL, J.P. *Leishmania: World-class parasites*, v. 4, Massachusetts: Kluwer Academic Publishers,. 2002. p. 45-57.
- CARDOSO, L.; CABRAL, M. *Leishmania* e leishmaniose canina. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, v. 93, n.1, p. 119-170, 1998.
- CIARAMELLA, F.P.; OLIVA, G.; DE LUNA, R.; GRADONI, L.; AMBROSIO, R.; CORTESE, L.; SCALONE, A.; PERSECHINO, A. A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *Veterinary Record*, v. 141, n.21, p.539-43, 1997.
- COUTINHO, J.F.V.; XIMENES, M.F.F.M.; JERÔNIMO, S. M. B.; CARVALHO, G.F.; QUIEROZ, P.V.S.; BATISTA, L.M.M.; CARLOTA, F.C.A. Estudo clínico-laboratorial e histopatológico em cães infectados naturalmente por *Leishmania chagasi*. *Revista Universidade Rural, Série Ciências da Vida*, v. 25, n.1, p. 123-124, 2005.

- DENEROLLE, P.H. Leishmaniose canina: Difficultes du diagnostic et du traitement. *Pratique Médecine Chirurgie Animal Compagnie*, v. 31, n.2, p. 137-145, 1996.
- DIAS, G. O. P.; LOROSA, E. S.; RÊBELO, J. M. M.; Fonte alimentar e peridomiciliação de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Psychodiade, Phlebotominae). *Cadernos de Saúde Pública*, v. 19, n. 5, p. 1373-1380, 2003.
- DUNCAN, J.R.; PRASSE, K.W. *Patologia Clínica Veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982, p. 26-50.
- FEITOSA, M.M.; LUVIZOTTO, M.C.R.; GONÇALVES, M. E.; LIMA, V. M. F.; CIARLINI, P. C. Aspectos clínicos de cães com leishmaniose visceral no município de Araçatuba - São Paulo (Brasil). *Clínica Veterinária*, v. 28, n.1, p. 36-44, 2003.
- FERRER, L. Leishmaniasis. In: KIRK R.W.; BONAGURA J.D. (eds.), *Kirk's Current Veterinary Therapy XI. Small Animal Practice*, Philadelphia: WB Saunders Co., 1992, p. 266-270.
- FERRER, L.M. Clinical aspects of canine leishmaniasis. In: INTERNATIONAL CANINE LEISHMANIASIS FORUM. Barcelona 1999, *Anais...* Barcelona: Intervet International. 1999, p.6-10.
- FERRER, L.; AISA, M.J.; ROURA, X.; PORTÚS, M. Serological diagnosis and treatment of canine leishmaniasis. *Veterinary Record*, v. 136, n.20, p. 514-516, 1995.
- FERRER, L.; JUANOLA, B.; RAMOS, J.A.; RAMIS, A. Chronic colitis due to *Leishmania* Infection in two dogs. *Veterinary Pathology*, v. 28, n.4, p. 342-3, 1991.
- GARCIA, A.M. *Estudo da infecção e doença no cão (Canis familiares) por Leishmania (Leishmania) chagasi em uma área endêmica na Ilha de São Luís-Maranhão, Brasil*. 74 p. 2004. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Maranhão, São Luis, 2004.
- GARCIA-NAVARRO, C.E.K.; PACHALY, J.R. *Manual de Hematologia Veterinária*. Rio de Janeiro, Varela, 1994, p. 169.
- GASCON, F.M. Leishmanioses caninas: Aspectos prognósticos y terapêuticos. In: CONGRESSO NACIONAL DE AVEPA, 29, 1995, Barcelona. *Anais...* AVEPA, 1994, p. 171-176.
- GIAUFFRET, A.; SANCHIS, R.; VITU, C. Les examens de laboratoire dans la leishmaniose canina. I. Application au diagnostic, au pronostic et au controle du traitement dans la maladie naturelle. *Revue Médecine Veterinaire*, v. 127, n. 6, p. 913-930, 1976.
- GUIMARÃES, K.S.; BATISTA, Z.S.; DIAS, E.L; GUERRA, R.M.S.N.C.; COSTA, A.D.C.; OLIVEIRA, A.S.; CALABRESE, K.S.; CARDOSO, F.O.; SOUSA, C.S.F.; ZAVERUCHADO VALE, T.; ABREU-SILVA, A.L. Canine visceral leishmaniasis in São José de Ribamar, Maranhão State, Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 131, n.3-4, p. 305-309, 2005.
- KEENAN, C.M.; HENDRICKS, L.D.; LIGHTNER, L. WEBSTER, H.K.; JOHNSON, A.J. Visceral Leishmaniasis in the German Shepherd dog. I. Infection, clinical diseases and clinical pathology. *Veterinary Pathology*, v. 21, n.1, p. 74-79, 1984.
- MARTINS, F.; SILVA, I. G.; BEZERRA, W. A.; MACIEL, I. J.; SILVA, H. H.H. G.; LIMA, C. G.; CANTUÁRIA, P.B.; RAMOS, O. S.; RIBEIRO, J. B.; SANTOS, A. S. Diversidade e frequência da fauna flebotomínica (Diptera: Psychodidae) em áreas de transmissão de leishmaniose no estado de Goiás. *Revista de Patologia Tropical*, v.31, n.2, p. 211-214, 2002.
- MARY, C.; ANGE, G.; DUNAN, S.; LAMAROUX, D.; QUILICI, M. Characterization of a circulating antigen involved in immune complexes in visceral leishmaniasis patients. *American Journal Tropical Medicine Hygiene*, v.49, n.4, p. 492-501, 1993.
- MARZOCHI, M.C.; COUTINHO, S.G.; DE SOUZA, W.J.; DE TOLEDO, L.M.; GRIMALDI JR, G.; MOMEN, H.; PACHECO, R.D.A.S.; SABROZA, P.C.; DE SOUZA, M.A.; RANGEL JR, F.B. Canine visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro, Brazil. Clinical, parasitological, therapeutical and epidemiological findings (1977-1983). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 80, n.3, p.349-357, 1985.
- MISSAWA, N.A.; DIAS, E.S. Phlebotominae sand flies (Diptera: Pshychodidae) in the municipality of Várzea Grande: an area of transmission of visceral leishmaniasis in the state of Mato Grosso, Brazil. *Memórias do Insituto Oswaldo Cruz*, v. 102, n. 8, p. 913-918, 2007.
- MORENO, J. & ALVAR, J. Canine leishmaniasis: epidemiological risk and the experimental model. *Trends in Parasitology*, v. 18, n. 9, p. 399-403, 2002.
- NIETO, C.G.; NAVARRETE, I.; HABELA, M.A.; SERRANO, F.; REDONDO, E. Pathological changes in kidneys of dogs with natural *Leishmania* infections. *Veterinary Parasitology*, v. 45, n.1-2, p. 33-47, 1992.
- OLIVEIRA, R.A.G. & POLINETO, A. *Anemias e Leucemias*. São Paulo: Roca, 2004, p. 93-104.
- RIBEIRO, V.M. Leishmanioses. *Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária*, v.3, n.11, p.13-4, 1997.
- REBÊLO, J.M.M.; Frequência horária e sazonalidade de *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: psychodidae; Phlebotominae na ilha de São Luis, Maranhão, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 17, n.1, p. 221-227, 2001.
- SANCHEZ, R.M.; DIEZ, T.M.A; CHICCHIO, S.B. *Leishmaniosis canina*. *Boletín Informativo Consejo General Colégios Veterinários Españoles*, v. 26, n. , p. 119-125, 1984.
- SANTA ROSA, I.C.A.; OLIVEIRA, I.C.S. Leishmaniose Visceral: breve revisão sobre uma zoonose reemergente. *Clínica Veterinária*, ano 2, n.11, p.24-28, 1997.
- SILVA, E.S.; GONTIJO, C.M.F.; PAHECO, R.S.; FIUZA, V.O.P.; BRAZIL, R.P. Visceral Leishmaniasis in the Metropolitan Region of Belo Horizonte, State of Minas

- Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 96, n. 3, p. 285-291, 2001.
- SUCEN. *Leishmaniose Visceral Americana*. II Informe Técnico, São Paulo: Secretaria de Saúde de São Paulo. 2003. p.7
- XIMENES, M. F. F.; SOUZA, M. F.; CASTELLÓN, E. G. Density of sand flies (Diptera: Psychodidae) in domestic and wild animal shelters in an area of visceral leishmaniasis in the state of Rio Grande do Sul. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 94, n. 4, p. 427-432, 1999.
- YOUNG, D. C.; DUNCAN, N. A. *Guide to the identification and geographic distribution of Lutzomyia sandflies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae)*. Gainesville: American Entomological Institute, 1994. 881p.

Recebido em 30 de abril de 2008.

Aceito para publicação em 14 de setembro de 2008.