



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Érica Gaspar Yaakoub

"Num mato com cachorro": o antagonismo do papel de portador e sentinela de zoonoses na Ilha Grande, Angra dos Reis, Rio de Janeiro

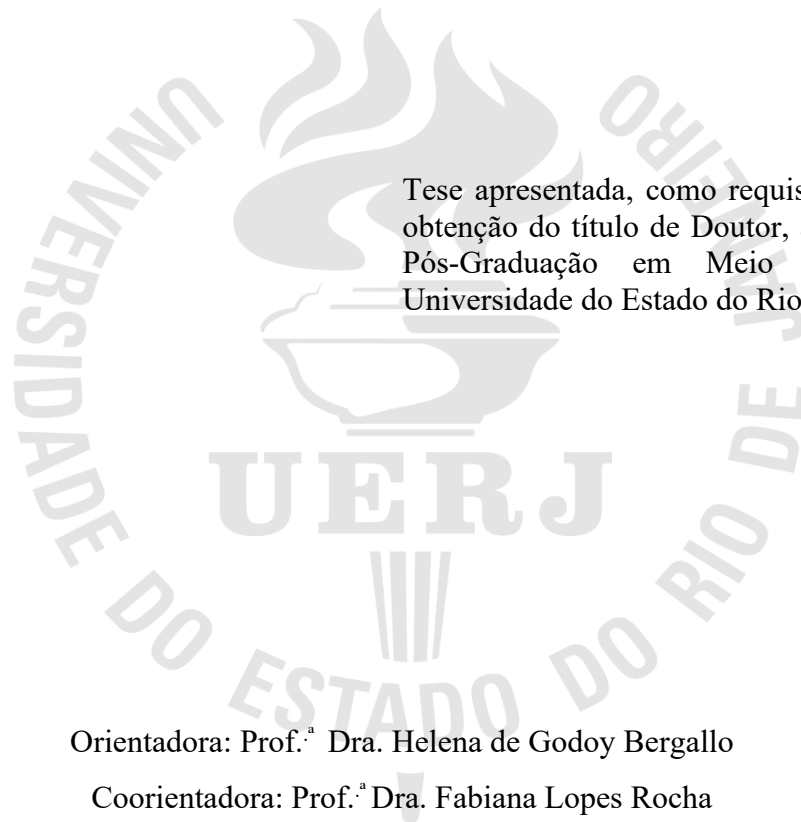
Rio de Janeiro

2019

Érica Gaspar Yaakoub

**"Num mato com cachorro": o antagonismo do papel de portador e sentinela de zoonoses
na Ilha Grande, Angra dos Reis, Rio de Janeiro**

Tese apresentada, como requisito parcial para
obtenção do título de Doutor, ao Programa de
Pós-Graduação em Meio Ambiente, da
Universidade do Estado do Rio de Janeiro.



Orientadora: Prof.^a Dra. Helena de Godoy Bergallo

Coorientadora: Prof.^a Dra. Fabiana Lopes Rocha

Rio de Janeiro

2019

CATALOGAÇÃO NA FONTE

UERJ / REDE SIRIUS / BIBLIOTECA CTC-A

Y11 Yaakoub, Érica Gaspar.
"Num mato com cachorro": o antagonismo do papel de portador e sentinela de zoonoses na Ilha Grande, Angra dos Reis, Rio de Janeiro/ Érica Gaspar Yaakoub. – 2019.
123 f. : il.

Orientadora: Helena de Godoy Bergallo
Coorientadora: Fabiana Lopes Rocha
Tese (Doutorado em Meio Ambiente) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

1. Zoonoses - Teses. 2. Doenças transmissíveis em animais - Teses. 3. Saúde pública - Ilha Grande, Baía da (RJ) - Teses. I. Bergallo, Helena de Godoy. II. Rocha, Fabiana Lopes. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. IV. Título.

CDU 616.993

Patricia Bello Meijinhos CRB7/5217 - Bibliotecária responsável pela elaboração da ficha catalográfica

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Érica Gaspar Yaakoub

**"Num mato com cachorro": o antagonismo do papel de portador e sentinela de zoonoses
na Ilha Grande, Angra dos Reis, Rio de Janeiro**

Tese apresentada, como requisito parcial para
obtenção do título de Doutor, ao Programa de
Pós-Graduação em Meio Ambiente, da
Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 28 de março de 2019.

Orientadoras:

Prof.^a Dra. Helena de Godoy Bergallo (Orientadora)
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Prof.^a Dra. Fabiana Lopes Rocha (Coorientadora)
Universidade Federal da Paraíba

Banca Examinadora:

Prof.^a Dra. Lena Geise
Departamento de Zoologia - UERJ

Prof.^a Dra. Elizabete Captivo Lourenço
Laboratório de Ecologia de Mamíferos - UERJ

Prof. Dr. Paulo Sérgio D'Andrea
Fundação Oswaldo Cruz

Prof. Dr. Bruno Moreira de Carvalho
Fundação Oswaldo Cruz

Rio de Janeiro

2019

DEDICATÓRIA



Dedico esta tese aos meus filhos peludos, Chicão (*In Memoriam*) e Gordo (*In Memoriam*), por me ensinarem que o mundo, apesar de assustador, é maravilhoso quando temos em quem confiar. Pelos mergulhos, trilhas, dias de trovoada e por todo amor trocado e a minha avó, Maria de Lourdes Gaspar (*In Memoriam*), por toda ternura e acolhimento que só as avós possuem.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a todos os elos que construí e reconstruí durante a gestação dessa tese. Pela sorte de ter clareza dos meus privilégios e poder transformá-los em melhorias coletivas em um mundo tão desigual.

À minha orientadora, Helena de Godoy Bergallo, por sua generosidade acadêmica, pela compreensão em todos os momentos, pelos abraços acolhedores, por ser uma inspiração dentro e fora da academia. Obrigada por todos os ensinamentos.

À minha co-orientadora, Fabiana Lopes Rocha, minha primeira musa acadêmica, a quem eu ficava a admirar durante o meu mestrado, encantada não só com a pesquisadora incrível, mas com a mulher dona dos seus sonhos. Obrigada pela amizade, paciência, olhar de mundo, orientação e por seguir a inspirar mulheres por aí.

À professora Fátima Branquinho, por me ensinar a enxergar fora da caixa e por ser uma pessoa de sensibilidade ímpar.

A todos os professores da Pós-Graduação em Meio Ambiente da UERJ, pelos horizontes abertos e dedicação ao curso.

Aos pesquisadores da FIOCRUZ Arthur Velho, Adílson Almeida e Renato Ornellas, por proporcionar a concretude dessa tese, mas especialmente ao Renatinho e Didi, pelas inúmeras idas à Ilha Grande, sempre animadas e regadas a gargalhadas e medo de o barco virar. Aos queridos Danilo Machado, Renata Albuquerque e Carol pela ajuda no campo, sempre dispostos a tudo, incluindo cão bravo e mar de ressaca.

Ao Dr. Hélio Langoni, da UNESP - Botucatu - por aceitar minhas amostras e às meninas do Laboratório de Diagnóstico de Zoonoses da instituição, Rafaella Prestes, Natalie Oliveira e Mariana Nilsson pela paciência comigo, sendo sempre muito solícitas.

À Dra. Elba Regina Sampaio Lemos, do Laboratório de Hantavirose e Rickettsioses da FIOCRUZ, por me receber e me ajudar nas análises com tanto carinho, bem como Raphael Gomes da Silva, que me capacitou para tais análises.

À equipe do INEA - Ilha Grande, especialmente ao Tercius Barradas, por todo o amparo em nossas estadias, à Alínea Gums, pela ajuda e organização em todos os campos, e ao Marquinhos, por nos guiar em segurança mar adentro.

A todos os cães de que coletamos sangue e seus olhinhos generosos.

Aos proprietários dos cães que permitiram que seus animais participassem dessa pesquisa.

Ao André Luiz Brito, da Associação de Moradores da Ilha Grande, não só pelo apoio logístico de nos emprestar sua casa em Saco do Céu, mas por todo apoio à pesquisa científica na região. E ao Seu Palma, pelo carinho em todas as minhas visitas à Ilha Grande.

À Pousada Coqueiro Verde, que nos alimentou em uma noite fria de pesquisa.

Às meninas da secretaria do PPGMA, Jennifer e Daniele, pela paciência comigo durante todos os anos de doutorado.

À Elizabete Captivo Lourenço, não só por ser uma parceira de campo incrível, mas também pela pessoa sensível e profissional dedicada que é.

Aos meus amigos queridos do PPGMA, da turma de 2014, Hudson da Silva, Deloar de Oliveira, Deivisson Cunha, Marciel Estevam, Ana Carolina Zanandrea, Felipe Robledo, Mariana de Paula, Alessandra Chacon e Daniel Cabral, vocês amenizaram a carga e estiveram ao meu lado em momentos muito importantes, obrigada por todo aprendizado e doação. Somos realmente a turma do amor.

Às minhas amigas queridas e mulheres inspiradoras Danielle Rodrigues, Kennie Cristina, Amanda Lima, Vanessa Carvalho, Cristiane Rangel, Patricia Maia, Flávia Fernandes, Gisele Costa, Luziana Aquino, Luana Pinho, Andreia Cardoso, Cristiane Correia, Dóris Campos, Tássia Ferraz, Jaqueline Alves, Luciana Abreu, Daniele Padilha, Carolina Guimarães, Marília Pinto e Gisele Silva, vocês são pura fortaleza e aprendizado.

Aos amigos de longa data que estão há tantos anos nas trincheiras da vida ao meu lado: André Coelho, Carlos Bahia e Anderson Gomes.

Aos meus alunos e ex-alunos da rede pública do Rio de Janeiro, que me transformam todos os dias em uma pessoa melhor, que me ensinam sobre a vida e que me enchem de amor e gratidão.

Ao meu pai, Paulo Renato Nobre, meus irmãos, Paulo Renato Nobre Jr, Alissa Nobre, Iago Nobre e minha madrasta, Lidia Maria Nobre, obrigada por serem tão amorosos com essa primogênita rebelde de alma inquieta. Amo vocês.

À família Yaakoub, pelo acolhimento e por me deixar fazer parte, em especial a duas mulheres, Auclimeia Yaakoub, minha sogra, exemplo de mulher forte e dedicada e, minha cunhada, Melissa Yaakoub, pela força e sensibilidade de enxergar a vida.

À família Gaspar, que tanto amor me dá, em especial à minha mãe, Márcia Gaspar, que nas batalhas da vida sempre tentou nos dar o melhor, e à minha irmã Larissa Gaspar, minha melhor amiga, minha fortaleza, quem caminha ao meu lado desde sempre. Ao meu cunhado, Emmanoel Laborão, por ser um grande irmão nessa vida, obrigada por somar tanto a nossa família.

Aos meus sobrinhos e sobrinhas, Maria Luiza Yaakoub, Davi Lima, Sofia Yaakoub, Pedro Gaspar e Arthur Yaakoub, por despertarem em mim esse amor sem igual que transborda do peito, amo vocês desmedidamente.

Aos meus filhos peludos, Bisteca, Biscoito, Quico (Gordo) e Chicão, pelo amor diário, pelos na roupa, companhia na escrita e essa doação linda que temos na nossa família.

Ao meu marido, André Yaakoub, que tão bem define a palavra "parceiro", que me mostrou o mundo e modificou todo o meu olhar, por assumir todas as tarefas da vida a dois, pelas revisões de texto, pela ajuda no campo, pelas ressignificações da vida cotidiana e pelos 19 anos de amor.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos cedida.

Ninguém muda ninguém;
ninguém muda sozinho;
nós mudamos nos encontros.

Roberto Crema

RESUMO

YAAKOUB, Érica Gaspar.. "*Num mato com cachorro*": o antagonismo do papel de portador e sentinela de zoonoses na Ilha Grande, Angra dos Reis, Rio de Janeiro. 2019. 123f. Tese (Doutorado em Meio Ambiente) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

A importância de construirmos elos entre os cuidados com a saúde humana, a conservação da biodiversidade e a transmissão desses conhecimentos de forma clara para a população é certamente uma forma eficaz de mitigar os efeitos deletérios que doenças provocam no cenário conservacionista. Ao pensarmos no cachorro doméstico (*Canis lupus familiaris*) como espécie invasora e carreadora de doenças para o ambiente silvestre, podemos inferir que ele também possa nos fornecer um indicativo da saúde ambiental do local que esta inserido. Estudos mostram que existe forte presença desses animais no interior de áreas protegidas brasileiras, como a região da Ilha Grande, Angra dos Reis, constituindo um sério problema em áreas que precisamos conservar. Cães também são importantes fontes de zoonoses, podendo atuar como um potencial reservatório de doenças para humanos e animais silvestres dentro da interface humanos, animais domésticos e animais silvestres. Assim, os objetivos do estudo foram avaliar a ocorrência e a prevalência de parasitos importantes no cenário da saúde coletiva e da conservação animal, discutindo os possíveis fatores de risco associados a estas doenças. Utilizamos uma abordagem soro-epidemiológica dos cães domésticos para doenças como leptospirose, toxoplasmose e bartonelose. Já para leishmaniose visceral, além do inquérito sorológico realizamos também análise parasitológica e molecular. Testamos associações entre a soropositividade encontrada destas doenças e fatores individuais dos animais amostrados, bem como alguns componentes ambientais que podem interferir na transmissão destas doenças para humanos e animais silvestres. Dos 392 animais amostrados quatro apresentaram resultado positivo para leishmaniose visceral canina, 14 foram reagentes para *Leptospiraspp.*, 118 foram positivos para *Toxoplasmaspp.* e dos 100 animais amostrados para *Bartonellaspp.*, 62 deram positivo para a sorologia. Encontramos correlação positiva entre o parâmetro do proprietário ter criação de galinhas e a incidência de leishmaniose visceral nos cães. Ainda identificamos o ciclo epidemiológico autóctone para leishmaniose visceral em cães na região de Saco do Céu. Com relação a leptospirose identificamos que o sorovar Pomona foi possivelmente introduzido na Ilha através da entrada de dois cães contaminados, justificando a preocupação com a introdução desta espécie em ambientes protegidos. Encontramos ainda mais quatro outros sorovares circulando na região estudada: Nupezo 01, Copenhageni, Pyrogenes e Icterohaemorrhagiae. Esperamos que os resultados se traduzam em ações concretas que visem o bem-estar de todos os elos envolvidos: animais domésticos, silvestres e o homem.

Palavras-chave: Zoonoses. Espécies Exóticas. Conservação. Saúde Pública. Ilha Grande.

ABSTRACT

YAAKOUB, Érica Gaspar. *"In a jungle with a dog": the antagonism of the role of the bearer and sentinel of zoonoses in Ilha Grande, Angra dos Reis, Rio de Janeiro.* 2019. 123f. Tese (Doutorado em Meio Ambiente) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

The importance of building links between human health care, biodiversity conservation and the dissemination of this knowledge on a clear form to the local population is certainly an effective way to mitigate the deleterious effects of diseases on the conservation landscape. When we think about the domestic dog (*Canis lupus familiaris*) as an invasive species and carrier of diseases into the wild, we may infer that it can also be an indicator of the environmental health of its area. Studies show that there is a strong presence of these animals in Brazilian protected areas, such as the Bay of Ilha Grande, Angra dos Reis, which is a serious problem in areas that need to be conserved. Dogs are also important sources of zoonoses and can act as a potential reservoir of diseases for humans and wild animals within the interface between humans, domestic animals and wildlife. Therefore, the objectives of the study were to evaluate the occurrence and prevalence of relevant parasites in the public health and animal conservation scenario, identifying associated risk factors associated. We used a sero-epidemiological approach of domestic dogs for diseases such as visceral leishmaniasis, leptospirosis, toxoplasmosis and bartonellosis. We tested associations between the seropositivity found and individual factors of the animals sampled, as well as some environmental elements that may interfere in the transmission of these diseases to humans and wild animals. Among 392 animals sampled, 4 presented positive results for canine visceral leishmaniasis, 14 were reagents for *Leptospira* spp. and 118 were positive for *Toxoplasma* spp.; and among 100 animals sampled for *Bartonella* spp., 62 tested positive for serology. We found a positive correlation between the chicken rearing and the incidence of visceral leishmaniasis in dogs. We also identified the complete epidemiological cycle for visceral leishmaniasis in the Saco do Céu area. Regarding to leptospirosis, we identified that the Pomona serovar was possibly introduced in Ilha Grande through the entrance of two contaminated dogs, wich justifies the concern with the introduction of this species in protected areas. We founded four other serovars circulating in the studied region: Nupezo 01, Copenhageni, Pyrogenes and Icterohaemorrhagiae. We hope that the findings will result into concrete actions aimed at the well-being of all involved links: domestic animals, wildlife and man.

Keywords: Zoonoses. Ilha Grande. Exotic Species. Conservation. Public health.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Casos de leishmaniose visceral humana no Brasil, 1980 a 2016.....	41
Figura 2 - Distribuição dos casos caninos e humanos de LV no Estado do Rio de Janeiro 2007- 2012.....	43
Figura 3 - Mapa da região da Ilha Grande.....	45
Figura 4 - Unidades de Conservação da Ilha Grande.	47
Figura 5 - Alfinetes amarelos indicando a localização das vilas amostradas no inquérito epidemiológico de leishmaniose visceral canina na Ilha Grande.	48
Figura 6 - Coleta de ectoparasitas dos cães amostrados.....	49
Figura 7 - Fluxograma das atividades laboratoriais realizadas para identificar a presença de leishmaniose visceral na região da Ilha Grande.	50
Figura 8 - Exemplo de teste positivo TRDPP Leishmaniose Visceral Canina Bio- Manguinhos® de cão doméstico (<i>Canis lupus familiaris</i>) de Ilha Grande, Rio de Janeiro.	51
Figura 9 - Realização da punção de linfonodo, punção de medula óssea e biópsia de pele íntegra nos cães domésticos (<i>Canis lupus familiaris</i>) positivos no teste de Ensaio Imunoenzimático Indireto em Ilha Grande, Rio de Janeiro.	52
Figura 10 - Mapa da Ilha Grande mostrando a distribuição espacial de <i>Toxoplasma</i> spp., <i>Leptospira</i> spp. (círculos superiores da esquerda para direita, respectivamente) e <i>Bartonella</i> spp. (círculo inferior) em cães domésticos (<i>Canis lupus familiaris</i>) nas diferentes praias amostradas. A intensidade da cor do círculo vermelho indica a porcentagem de soropositividade de cada zoonose.	91
Figura 11 - Relação entre a titularidade de <i>Toxoplasma</i> spp com o tamanho do corpo dos cachorros. Legenda: G=grande, M=médio e P=pequeno.	89

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Inquérito sorológico de *Leishmania spp.* em cães domésticos (*Canis lupus familiaris*) em Ilha Grande, Rio de Janeiro. A tabela indica os locais de coleta, número de cães amostrados, número de cães positivos no teste rápido qualitativo para Leishmaniose Visceral Canina (TRDPP) e no Ensaio Imunoenzimático Indireto (ELISA), bem como a média de idade de cães amostrados e soropositivos.....56
- Tabela 2 - Características individuais de cães domésticos (*Canis lupus familiaris*) soropositivos no teste TRDPP para Leishmania Visceral na Ilha Grande, Rio de Janeiro.55
- Tabela 3 - Resultado dos testes sorológicos e parasitológicos de cães em algumas localidades na Ilha Grande, onde + indica um resultado positivo, e – indica um resultado negativo para o teste. Caixas marcadas com 0 indicam que o procedimento não foi realizado.....56
- Tabela 4 - Efeito do sexo, tamanho corporal (pequeno, médio e grande), condição corpórea (bom, alopecia, lesões na pele, magro), tipo de confinamento (preso ou solto) e criação ou não de galinhas e idade (<1, 2-4, 5-8, >9 anos) na soropositividade de *Leishmania spp* na Ilha Grande, Estado do Rio de Janeiro. X^2 refere-se ao valor do teste qui-quadrado e P, o nível de significância do teste. A célula marcada indica valor significativo.57
- Tabela 5 - Sorovares utilizados na soroaglutinação microscópica para o diagnóstico de *Leptospira spp.* em cães domésticos (*Canis lupus familiaris*) de Ilha Grande, Rio de Janeiro.....84
- Tabela 6 - Sorologia realizada em amostras de cães domésticos (*Canis lupus familiaris*) em Ilha Grande, Rio de Janeiro, para detecção da presença de anticorpos anti *Toxoplasma spp.*, *Leptospira spp.* e *Bartonella spp.* A prevalência (%) foi estimada pelo número de positivos dividido pelo número de amostrados.88
- Tabela 7 - Títulos sorológicos de anticorpos anti-*Toxoplasma spp* de amostras de cães domésticos (*Canis lupus familiaris*) em Ilha Grande, Rio de Janeiro, para detecção da presença de anticorpos anti -*Toxoplasma spp*.....88

Tabela 8 - Resultados da Análise de anticorpos anti- <i>Leptospira</i> spp. em cães domésticos (<i>Canis lupus familiaris</i>) na Ilha Grande, Estado do Rio de Janeiro, com os respectivos reservatórios dos sorovares (Hagiwara 2004).....	89
Tabela 9 - Efeito do sexo, tamanho corporal (pequeno, médio e grande), condição corpórea (bom, alopecia, lesões na pele, magro), tipo de confinamento (preso ou solto) e criação ou não de galinhas e idade (<1, 2-4, 5-8, >9 anos) na soropositividade das três zoonoses na Ilha Grande, Estado do Rio de Janeiro. X ² refere-se ao valor do teste qui-quadrado e P, o nível de significância do teste. A célula marcada indica valor significativo.....	90

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CEUA	Comitê de Ética no Uso Animal
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
INEA	Instituto Estadual do Ambiente
IPCC	<i>Intergovernmental Panel on Climate Change</i>
LT	Leishmaniose Tegumentar
LV	Leishmaniose Visceral
LVA	Leishmaniose Visceral Americana
LVC	Leishmaniose Visceral Canina
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PEIG	Parque Estadual da Ilha Grande
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
UNESCO	<i>United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>
SRD	Sem raça definida

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	32
1	AGENTES ETIOLÓGICOS DAS LEISHMANIOSES	33
2	OS VETORES	34
3	HOSPEDEIROS E RESERVATÓRIOS DE <i>LEISHMANIA</i> SPP.	36
3.1	Ciclo de transmissão	37
4	A LEISHMANIOSE NO MUNDO	38
4.1	A leishmaniose no Brasil	38
4.2	Leishmaniose visceral no Estado do Rio de Janeiro	42
4.3	A leishmaniose visceral na Ilha Grande	43
5	OBJETIVOS	44
6	MATERIAL E MÉTODOS	45
6.1	Características da área estudada	45
6.2	Declaração de ética e biossegurança	47
6.3	Localidades estudadas no levantamento epidemiológico para leishmaniose visceral na Ilha Grande	48
6.4	Inquérito canino: sensibilização da população	48
6.5	Amostragem	49
6.5.1	<u>Coleta de Sangue</u>	49
6.5.2	<u>Análise Laboratorial – Testes Sorológicos</u>	50
6.5.3	<u>Análise Laboratorial – Testes Parasitológicos</u>	51
6.6	Sedação	52
6.7	Biópsias de pele	52
6.8	Punção aspirativa de medula óssea	53
6.9	Isolamento parasitário em meio de cultura	53
6.10	Análise estatística	54
7	RESULTADOS	55
7.1	Sorologia	56
7.2	Extração de DNA	57
7.3	Protocolo da PCR para região 18S rDNA	57
7.3.1	<u>Sequenciamento molecular</u>	57
8	DISCUSSÃO	58

	CONSIDERAÇÕES FINAIS	63
	REFERÊNCIAS	64
9	AS ZOONOSES.....	75
9.1	Toxoplasmose	75
9.2	Leptospirose	76
9.3	Bartonella	78
10	OBJETIVOS.....	81
11	MATERIAL E MÉTODOS.....	82
11.1	Coleta de campo.....	82
11.2	Procedimento laboratorial.....	82
11.2.1	<u>Procedimento laboratorial: toxoplasmose</u>.....	82
11.2.1.1	Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) para detecção de anticorpos IgG <i>Anti - Toxoplasma gondii</i>	82
11.2.1.2	Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI).....	83
11.2.2	<u>Procedimento laboratorial: leptospirose</u>.....	83
11.2.3	<u>Procedimento laboratorial: Bartonella</u>	85
11.3	Análise estatística.....	85
12	RESULTADOS.....	87
13	DISCUSSÃO.....	90
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	98
	REFERÊNCIAS	100
	ANEXO A - Artigo publicado na Revista Saúde Soc. São Paulo, v.25, n.1, p.247-258, 2016.....	106
	ANEXO B - Aprovação da pesquisa por parte da Associação de Moradores da Ilha Grande.....	119
	ANEXO C - CEUA	120
	ANEXO D - Questionário preliminar sobre saúde aplicado aos moradores da Ilha Grande.....	121
	ANEXO E - Termo de consentimento do proprietário do animal amostrado	122
	ANEXO F - Porcentagem de similaridade do isolado de <i>Trypanosoma caninum</i>	123

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Mato com cachorro. E agora?

A expressão, tão popularmente usada, “*num mato sem cachorro*”, nos remete a uma situação difícil de ser solucionada, um problema. Dentro da ótica do manejo ambiental, os cães são usualmente encarados como um problema pelos conservacionistas, mas do ponto de vista cultural esses animais são vistos como grandes amigos do homem em sua jornada de vida. Cães aprenderam a explorar o rico nicho da proximidade dos seres humanos, vivendo em torno de aldeias e cidades. Dentro da cultura ocidental, vemos os cães como fiéis companheiros e ajudantes em uma grande quantidade de atividades humanas, tais como caça, defesa, criação de gado, pet, entre tantas outras. Nós tendemos a ver os cães como um produto da capacidade humana de moldar a natureza às nossas necessidades e, como tal, gostamos de achar que eles são aceitáveis na medida em que estão sob nosso controle total. Um cão em liberdade é um elemento de perturbação para nossa visão ordenada da natureza e, portanto, torna-se um problema para a sociedade. Esta é uma posição compreensível e digna, mas mostra o quão limitado é nosso sistema cultural quando tentamos construir uma visão mais ampla dos processos ecológicos em torno de nós. Os cães errantes, de áreas tropicais e subtropicais, muitas vezes em condições precárias, são percebidos como o paradigma de um ambiente degradado e não aprazível à condição humana. Eles são os sintomas de uma situação a ser corrigida, um distúrbio a ser eliminado. Até quando vamos escolher um protagonista para tirar dos nossos ombros o peso de nossas ações a longo prazo na natureza?

Precisamos de um olhar generoso para perceber que os cães são uma controvérsia muito mais ampla dentro do cenário socioambiental. A partir desse novo olhar, podemos obter uma visão melhor da evolução desses animais, do seu comportamento, da sociabilidade e das suas exigências ecológicas e, o mais importante, podemos estabelecer um relacionamento mais respeitoso com eles.

A plasticidade morfológica e intelectual dos cães acabou por se tornar seu principal algoz, pois são essas características que nos preocupam quando os cães entram no círculo interno de nossos interesses: os cães como predadores da vida silvestre, como portadores de doenças e zoonoses, como concorrentes dos recursos necessários para outros predadores selvagens protegidos, como causa da hibridização com canídeos selvagens. Todos esses impactos listados são legítimos e merecem nossa justificativa de mitigação, pois mesmo em uma visão ampla de cães como animais "naturais", é nossa responsabilidade gerenciar e

restringir o nicho dos mesmos. O presente trabalho espera contribuir para uma abordagem que comungue respeito e ações concretas de conservação e saúde para todos os elos da interface animais humanos/silvestres/domésticos.

REFERENCIAL TEÓRICO

Populações são limitadas por três fatores: disponibilidade de recursos, predação e doenças. Os dois primeiros mecanismos são bem entendidos, mas nossa compreensão do terceiro fator é mais limitada. Enquanto estudos sobre seres humanos e animais domésticos revelam uma grande compreensão dos mecanismos próximos pelos quais os parasitos que causam doenças influenciam os hospedeiros individuais, uma perspectiva ecológica que envolve a compreensão de como esses parasitos podem alterar a dinâmica mais ampla das populações e a estrutura das comunidades só agora está emergindo. Parte da dificuldade é o fato de sabermos muito pouco sobre a história natural básica dos parasitos que são abrigados pela maioria das espécies hospedeiras (Gompper 2014).

Os parasitos são onipresentes na vida dos animais selvagens e representam um componente importante da diversidade biológica (Price 1980). Modelos matemáticos sinalizam que os parasitos têm grande potencial de regulação das populações de hospedeiros (Anderson & May 1992), formando um grupo com alta diversidade, que chega a ter mais espécies que grupos de vida livre, sendo fundamentais para o funcionamento dos ecossistemas emoldando comunidades (Nichols & Gómes 2011). Além da riqueza de espécies, a biomassa de parasitos constitui grande parte da biodiversidade, e as relações parasito-hospedeiro são funcional e proporcionalmente muito importantes em cadeias tróficas (Hudson *et al.* 2006).

Estudos apontam que ecossistemas naturalmente ricos em parasitos são mais saudáveis e resilientes (Marcogliese 2004; Hudson *et al.* 2006) e que a mortalidade causada por doenças ocorre normalmente em populações selvagens (Young 1994). Porém, frente ao antropoceno, a ocorrência de doenças emergentes e reemergentes vem aumentando em animais silvestres, domésticos e humanos do mundo todo, se tornando uma fonte de risco à conservação da biodiversidade (Daszak *et al.* 2000; Aguirre *et al.* 2002; Smith *et al.* 2009).

Parasitos e agentes infecciosos passaram a ser encarados como gatilhos de extinção de espécies (Daszak *et al.* 2000). Das mais de 800 extinções de espécies animais conhecidas nos últimos 500 anos, uma proporção considerável (~4%) foi causada por doenças que atuam, em conjunto, com outros fatores de extinção (Pedersen *et al.* 2007; Smith *et al.* 2009).

As doenças infecciosas emergentes (DIE) da vida selvagem podem ser divididas conforme alguns critérios definidos por Daszak *et al.* 2000: 1. Doenças associadas com a transmissão de animais domésticos para populações próximas de animais selvagens; 2. Doenças relacionadas à intervenção humana, via translocação de parasitos ou hospedeiros; e 3. Doenças sem envolvimento humano ou de animais domésticos. As DIE, representam um

entreve quando pensamos em conservação da biodiversidade global e sinalizam uma mudança na ecologia dos hospedeiros e dos parasitos, alterando os cenários ecológicos na maioria das vezes como consequência de ações antropogênicas (Schrag & Wiener 1995; Aguirre *et al.* 2002).

Dentro deste cenário, o cachorro doméstico (*Canis lupus familiaris*) pode ser um importante ator na modificação da dinâmica populacional da fauna silvestre. Em uma revisão de organismos causadores de doenças de seres humanos e animais domésticos, Cleaveland *et al.* (2001) identificaram 358 patógenos que são relatados infectantes para cães, onde 168 (47%) são compartilhados entre cães e mamíferos selvagens. Por grupo taxonômico, 71,4% dos vírus que infectam cães são compartilhados com mamíferos silvestres, assim como 56,1% dos helmintos, 50% dos protozoários, 46,7% das bactérias e 15,4% dos fungos (Cleaveland *et al.* 2001). Assim, uma proporção significativa dos parasitos associados aos cães também é compartilhada com a vida selvagem. A partir disso, existem dados que a maioria desses parasitos compartilhados são principalmente parasitos de carnívoros (Gompper 2014; Cleaveland *et al.* 2001). No entanto, dois pontos merecem consideração: em primeiro lugar, a observação de que cães compartilham parasitos com animais selvagens não significa necessariamente que esses parasitos sejam mantidos em populações caninas de tal forma que, na ausência de cães, os parasitos não persistiriam. Em segundo lugar, mesmo que os cães tenham uma influência importante na prevalência desses parasitos em espécies de animais selvagens, muitos desses parasitos compartilhados podem ter pouco ou nenhum efeito na saúde do hospedeiro e nas trajetórias da população hospedeira frente a fatores como disponibilidade de recursos e predação. Apenas um punhado desses parasitos é conhecido ou suspeito de ser uma preocupação para populações de animais selvagens e no contexto da transmissão de cães para animais silvestres (Gompper 2014).

Das 374 espécies de parasitos que causam doenças em carnívoros domésticos (cães e gatos), 91% são patógenos de múltiplos hospedeiros (Cleaveland *et al.* 2001), o que significa que a infecção não é limitada a uma única espécie, mas pode ocorrer em várias espécies hospedeiras, incluindo seres humanos, animais domésticos e de vida selvagem. Assim, a grande maioria dos parasitos dos cães também é capaz de causar infecções em outras espécies. Fenton e Pedersen (2005) fornecem uma estrutura conceitual estendida para a transmissão de parasitos multihospedeiros, que leva em consideração a variação nas taxas de transmissão interespecífica e intraespecífica. Essa abordagem é útil para considerar as opções de manejo para o controle da transmissão de parasitos de cães à espécies silvestre.

Entender a dinâmica de como os cães se configuram "reservatórios de infecção" dentro desses sistemas de múltiplos hospedeiros é a chave para o planejamento de programas eficazes de controle de doenças e requer um entendimento holístico do conceito de "reservatórios". Viana e colaboradores (2014) trazem um conceito mais atual e integrado sobre a definição de reservatório de infecção. Os autores enfatizam a importância da conectividade entre as populações fonte e alvo, com a compreensão de como as populações estudadas estão epidemiologicamente conectadas entre si. Outro ponto a ser analisado dentro desta proposta mais ampla é o tamanho crítico da comunidade que seria usado como uma medida de persistência do patógeno na estrutura ecossistêmica, sendo um dos parâmetros para se caracterizar uma população de manutenção. E, finalmente, o entendimento de que um reservatório pode compreender múltiplas populações interagentes da mesma espécie ou de espécies diferentes e, assim, pode ser representado como uma metapopulação, onde a capacidade do reservatório se traduz em uma medida do potencial de persistência de patógenos em uma população hospedeira estruturada na ausência de importações externas e, assim, pode ser usada para avaliar se uma população se constitui em um reservatório. Portanto, atualmente espécie reservatório vem sendo definida como um sistema ecológico, formado por uma espécie ou um conjunto de espécies responsáveis por manter a circulação de um parasito na natureza em um determinado período e espaço.

Portanto a detecção de um animal infectado não se traduz em este ser um reservatório (Rocha 2013). Um animal infectado é definido como um hospedeiro do parasito, mas seu papel na manutenção do ciclo de transmissão em uma determinada região está relacionado à sua habilidade de persistir neste hospedeiro, bem como das inter-relações do hospedeiro dentro da comunidade que venham a favorecer a transmissão deste parasito. Todas essas relações é que vão caracterizar a competência de uma espécie animal como reservatório de infecção (Jansen & Roque 2010).

Toda a rede de interações entre o parasito e seu hospedeiro apresenta uma infinidade de fatores relacionados a ambos. Com relação ao hospedeiro, podemos considerar preditores como sexo, idade, padrão comportamental, competência imunológica e coinfeções; e ao parasito, tempo de geração, potencial reprodutivo, estratégias de transmissão, entre outros (Rocha 2013). Assim, nomeamos hospedeiros mantenedores aqueles capazes de manter a infecção de um dado parasita, e hospedeiros dispersores aqueles que apresentam um perfil de infecção que favorece a transmissão do parasita em questão, como alta transmissibilidade, por exemplo (Rocha 2013). Dentro de um cenário dinâmico dos ecossistemas, ainda mais quando

pensamos em ações antropogênicas, cabe lembrar que essas características são mutáveis, de modo que reservatórios mantenedores podem agir como dispersores a partir de múltiplos fatores concomitantes (Coors & Meester 2011, Ulrich & Schmid-Hempel 2012).

Poucos estudos abordam o cenário ecológico para indicar um possível papel dos hospedeiros na manutenção e transmissão do parasito, e, embora os conceitos e métodos empregados para a investigação de reservatórios de parasitas tenham mudado significativamente ao longo do tempo (Ashford 1997; Haydon *et al.* 2002; Viana 2014), a maioria das descrições de reservatórios ainda são caracterizadas a partir de achados de infecção natural, os quais não fornecem subsídios sobre a epidemiologia desse hospedeiro para a manutenção do parasita na área (Roque & Jansen 2014).

Portanto, o sistema de espécies reservatórios é multifatorial, imprevisível e dinâmico, formando uma unidade biológica que está em constante mudança em função das alterações do meio ambiente e devem ser levados em conta intervalos determinados de tempo e espaço (Rocha 2013). Isto retrata que os cenários epidemiológicos não são sistemas estáticos e devem sempre ser tratados dentro da organicidade das regiões estudadas (Rocha 2013).

A população canina pode ser a única população de manutenção dentro de uma comunidade ou meramente um vetor de transmissão do patógeno de uma população / comunidade de manutenção para a população alvo. Por outro lado, a ausência de uma associação entre a exposição ao parasito e o contato doméstico com cães fornece algumas evidências de que os cães domésticos não são o único reservatório desse patógeno e que outros animais silvestres podem desempenhar um papel importante dentro deste cenário. As populações de animais silvestres na manutenção de parasitos também podem ser importantes quando se consideram outras populações-alvo, como seres humanos ou animais domésticos.

A transmissão de um parasito de um hospedeiro infeccioso para um hospedeiro suscetível, seja do mesmo ou de um táxon diferente, requer o contato direto ou indireto dos dois hospedeiros. A extensão do contato necessário para permitir a transmissão, no entanto, depende do parasito (Gompper 2014). Em alguns casos, a infecção requer hospedeiros intermediários ou vetores artrópodes. Assim, em uma escala populacional, a taxa de contato entre cães e animais selvagens deve ser considerada no contexto de um parasito específico tanto quanto à capacidade dos vários taxa que compõem uma comunidade para atuar como hospedeiros competentes, como relatado no exemplo dos burros da Venezuela. Portanto, é necessário reconhecer que os parasitos frequentemente ocorrem em uma comunidade de múltiplos hospedeiros e que a composição da comunidade pode mediar o impacto do patógeno em qualquer membro desta.

Hipoteticamente, também pode haver transmissão do parasito de animais silvestres para cães, embora na maioria dos casos a importância disso seja ignorada ou considerada presumivelmente pouco importante em influenciar a dinâmica do parasito (Gompper 2014).

Laurenson *et al.* (2003), assumindo um sistema de reservatório-alvo no qual uma população canina está epidemiologicamente ligada a uma população alvo da vida selvagem, e pode, portanto, representar um risco potencial de transmissão de patógenos para aquela população-alvo, propõem quatro abordagens gerais de gerenciamento para reduzir o risco de infecção e/ou disseminação na população-alvo: (1) não fazer nada, (2) controlar o alvo, (3) bloquear o controle e (4) controlar o reservatório. As premissas, vantagens e desvantagens dessas abordagens, bem como suas possibilidades reais de serem encenadas e culminarem no sucesso do gerenciamento, são discutidas longamente por Laurenson *et al.* (2005) e Breed *et al.* (2009). É importante reconhecer que a primeira abordagem - a não intervenção - é em si uma opção de gestão válida (Laurenson *et al.* 2005). A introdução e disseminação de um parasito nem sempre afetam as populações. Mesmo em populações que experimentam impactos relacionados à invasão episódica de parasitos, os esforços de conservação podem ser mais direcionados para garantir grandes populações ou metapopulações conectadas capazes de absorver ou recuperar essas perturbações em vez de tentar reduzir a transmissão do próprio parasito (Alexander *et al.* 2010). Por outro lado, há circunstâncias em que a ameaça direta à viabilidade populacional por um parasito em uma população de cães-reservatório é suficiente para a intervenção, sendo necessária uma abordagem multidisciplinar, ligando as ciências veterinárias, médicas, políticas públicas, ecologia e conservação da vida selvagem para melhor mitigar essas problemáticas.

Unidades de Conservação (UC) são áreas protegidas por lei federal e representam uma das melhores estratégias de proteção do patrimônio natural. Nestas áreas, a fauna e a flora devem ser conservadas assim como os processos ecológicos que regem os ecossistemas, garantindo a manutenção do estoque da biodiversidade (Ibama 2003). Além disso, essas áreas possibilitam o acesso de pesquisadores às informações imprescindíveis para a conservação da fauna.

Um dos atuais embates é a dificuldade de manter a efetividade das UC que pode ser afetada por fatores relacionados a sua estrutura da paisagem, perda de habitat, aumento da ocupação humana, aumento da densidade humana e invasão por espécies exóticas (Le Saout *et al.* 2013; Lessa *et al.* 2017). Fatores relacionados a ocupação e densidade humana facilitam a entrada de espécies invasoras, como os cães domésticos (Pysek *et al.* 2008).

O cão doméstico está entre as principais espécies invasoras e é o mamífero carnívoro mais abundante no mundo devido a sua relação estreita e dependência de humanos (Gompper 2014). A alta população dos cães é resultado de uma associação complexa com humanos, um relacionamento que se desenvolveu há 12.500 a 30.000 anos (Vanak & Gompper 2010; Clutton-Brock 2012). A dependência de alimento, abrigo e proteção é tão forte que as condições de saúde dos cães domésticos estão diretamente associadas às condições econômicas de seus donos (Fung *et al.* 2014). A introdução de espécies exóticas é uma das ameaças mais significativas impostas pelos seres humanos à biodiversidade sendo a segunda maior causa de extinção de espécies (Scholes & Biggs 2005). Espécies exóticas invasoras podem alterar as condições ambientais e causar impactos severos na composição e estrutura natural da comunidade (Richardson 2011). A Convenção sobre Diversidade Biológica define espécies exóticas invasoras como uma espécie fora de sua área de origem que ameaça a integridade dos ecossistemas, habitats e a permanência de espécies nativas. Interações como predação, competição, transmissão de patógenos e hibridização iniciam processos ecológicos que levam à diminuição da população de espécies nativas e mudanças na dinâmica dos ecossistemas (Simberloff & Hole 1999). Ressalta-se ainda que espécies exóticas são legalmente proibidas em áreas protegidas brasileiras (Lei Federal nº 9.985, SNUC 2000).

A presença de cães domésticos em unidades de conservação é bastante recorrente no Brasil e tem fortes impactos negativos sobre sua fauna nativa. Estes impactos vão desde alterações comportamentais para evitar a presença dos cães (Lessa *et al.* 2017; Vanak *et al.* 2009), passando por interferência na distribuição espacial de espécies nativas por competição e perseguição/perturbação (Lessa *et al.* 2017; Vanak & Gompper 2010; Silva- Rodríguez & Sieving 2012), até a predação e transmissão de doenças (Vanak & Gompper 2009). O comportamento humano, no que diz respeito ao manejo de animais domésticos, também influencia a transmissão de doenças na interface entre animais domésticos e silvestres (Curi 2014).

Um número crescente de estudos tem chamado a atenção para essa ocorrência comum de cães dentro de áreas protegidas (e.g. Srbek-Araujo & Chiarello 2008; Lacerda *et al.* 2009; Espartosa 2009; Paschoal *et al.* 2012; Lessa *et al.* 2016). Esta é uma evidência alarmante de que essas áreas, embora consideradas e usadas como base da conservação da biodiversidade (Chape *et al.* 2005; Loucks *et al.* 2008) e as principais fortalezas da natureza selvagem (Bruner *et al.* 2001), podem não ser efetivamente protegidas.

Nos pautando em todas as problemáticas apresentadas, é importante termos em mente que, por outro lado, os cães apresentam características ecológicas, fisiológicas e

comportamentais que os tornam uma boa espécie sentinela de doenças para humanos e animais silvestres (Cleaveland *et al.* 2006; Halliday *et al.* 2007). Eles convivem intimamente com os humanos, mas também adentram áreas ricas em espécies nativas. São reservatórios competentes para várias doenças comuns a humanos e outros animais e vivem em densidades geralmente altas devido ao apadrinhamento do homem (Cleaveland *et al.* 2001; Young *et al.* 2011; Gompper 2014, Knobel *et al.* 2014). Os laços estreitos com os humanos permitem relativa facilidade de manuseio e amostragem, resultando na facilidade de se estudar e compreender suas interações com muitas espécies parasitas. Isso se constitui em importante ferramenta de saúde pública, contribuindo para alertar sobre possíveis epidemias em humanos, bem como identificar patógenos que possam estar presentes em determinadas regiões antes que eles se transformem em um problema maior de saúde coletiva. Portanto, os cães domésticos que vivem perto de áreas ricas em fauna são importantes instrumentos de estudo e podem ser utilizados como sentinelas ou indicadores de saúde, e de risco de doenças para a conservação, principalmente de espécies da ordem Carnívora (Curi 2014).

Tendo consciência que o conceito de saúde ecológica depende da concepção holística dos sistemas e de suas intrincadas redes de conexão, sabemos que o que se preserva em uma região não são simplesmente organismos individuais, mas toda a teia que os liga. Frente a isso, devemos ter atenção ao cenário atual em que nos imergimos, onde, de acordo com o Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas (IPCC 2007), o aquecimento global se perfila como uma realidade cheia de desdobramentos que precisamos compreender. Com essas mudanças, diversos impactos à saúde humana já podem ser sentidos, como o aumento de casos de desnutrição, de doenças relacionadas a eventos climáticos extremos, da frequência de doenças cardiorrespiratórias e mudanças na dinâmica das doenças transmitidas por vetores (Confalonieri *et al.* 2007). Visto isso, devemos atentar para o fato de que 61% de todos os patógenos humanos são classificados como zoonoses (Taylor *et al.* 2001). Assim, estas infecções podem espalhar-se em larga escala entre populações humanas depois de introduzidas e podem “saltar” frequentemente de animais reservatórios tendo um sério impacto sócio-econômico e de saúde coletiva (Rocha 2013).

Doenças parasitárias são muitas vezes de origem zoonótica e envolvem diversos organismos em complexas cadeias de transmissão. As relações ecológicas entre estes organismos são altamente dinâmicas e determinam como as doenças se comportam em escalas espaciais e temporais (Carvalho 2013). Deste modo, mudanças climáticas e ambientais, sejam elas causadas por fenômenos naturais ou intervenções humanas, afetam diretamente estas relações ecológicas, determinando mudanças como expansão, emergência e

reemergência das doenças (Walsh *et al.* 1993; Ostfeld & Keesing 2000; Patz *et al.* 2000; Daszak *et al.* 2001; McMichael 2004; Macpherson 2005).

A leishmaniose visceral (LV) é uma importante doença dos seres humanos transmitida por vetores, sendo os cães os principais hospedeiros reservatórios. Entretanto, várias outras espécies animais podem atuar como reservatórios, como o cachorro do mato (*Cerdocyon thous*), por exemplo, que mostra alta prevalência de infecção por *Leishmania infantum* e há muito são consideradas fontes potenciais de infecção humana, mostrando a importância de identificar corretamente o hospedeiro do reservatório antes da implementação das medidas de controle (Gompper 2014). Um exemplo prático dessa afirmação é o modelo matemático desenvolvido por Chaves *et al.* (2007), para leishmaniose tegumentar americana (LTA). Eles usaram no modelo parâmetros de um surto de LTA na Venezuela para explorar a dinâmica de prevalência da doença em humanos (a população alvo) após o abate de uma das duas populações epidemiologicamente ligadas: cães (que são hospedeiros acidentais no caso de LTA), e burros (*Equus africanus asinus*), um verdadeiro hospedeiro reservatório. Modelar o abate de burros reduziu a prevalência da doença em humanos, como esperado. No entanto, o modelo mostrou que a eutanásia dos cães aumentaria a prevalência em humanos. Isso reflete que, embora possa ser difícil estabelecer o papel dos cães no sistema de reservatório de patógenos da vida selvagem, tal passo é aconselhável antes de implementar quaisquer medidas de controle destinadas a estes animais.

Estamos cada vez mais restringindo o espaço da fauna silvestre e aumentando o seu contato com animais domésticos e humanos. Com isso a transmissão de doenças entre todos os elos envolvidos se intensificará, se transformando em um desafio à saúde pública. Portanto, ações conservacionistas devem ocorrer de antemão a qualquer indicativo de elementos que possam desestruturar os ecossistemas naturais, sendo a prevenção fundamental para a manutenção da saúde ecológica.

Finalmente, não podemos negligenciar que o impacto de algumas dessas doenças é proporcionalmente maior em locais onde as condições de vida da população favorecem a exposição a certos parasitos, cuja transmissão pode estar associada a condições habitacionais e sanitárias precárias, bem como à desigualdade no acesso à educação e aos serviços de atenção primária à saúde.

Dentro desse contexto, o presente trabalho tem o intuito de analisar o estado sanitário dos cães na região da Ilha Grande, Município de Angra dos Reis – Estado do Rio de Janeiro, através de um estudo epidemiológico. A tese está organizada em dois capítulos mais um anexo ao final. O primeiro capítulo se debruça na identificação da presença da leishmaniose

visceral canina, através de testes sorológicos e moleculares, e a amplificação da mesma por reservatórios caninos, atentando para questões-problema como reações cruzadas que afetam a detectabilidade da doença e em como podemos concentrar esforços no direcionamento de medidas eficazes de combate à mesma. O segundo capítulo faz um levantamento do perfil sorológico dos cães para leptospirose, toxoplasmose e bartonelose. Além disso, assinalamos os possíveis fatores de risco associados à transmissão para seres humanos e silvestres dentro da interface humanos / animais domésticos / animais silvestres para o direcionamento de recursos e ações conservacionistas, e também para a proteção da saúde humana nessa região. No anexo A, encontra-se um levantamento de dados científicos que corroboram a ineficácia do uso da eutanásia como medida de enfrentamento à leishmaniose visceral, abordando também questões socio-políticas associadas ao tema.

Por fim, enfatizar a necessidade de uma abordagem *One Health* para um manejo e controle mais eficientes desses parasitos, sendo a união da medicina veterinária e humana - *One Medicine* - fundamental para reduzir os riscos à saúde de animais de estimação e humanos.

REFERÊNCIAS

- AGUIRRE, A.A. et al. *Conservation medicine*. Oxford: Oxford University Press, 2002.
- ALEXANDER, K.A. e MCNUTT, J.W. Human behavior influences infectious disease emergence at the human–animal interface. *Frontiers in Ecology and the Environment*, v. 8, p. 522-526, 2010.
- ANDERSON, R.M. e MAY, R.M. *Infectious diseases of humans, dynamics and control*. New York: Oxford University Press, 1992.
- ASHFORD, R.W. What it takes to be a reservoir host. *Belgian Journal of Zoology*, v. 127, p. 85-90, 1997.
- BROOKS, D.R. e HOBERG, E.P. How will global climate change affect parasite-host assemblages? *Trends in Parasitology*, v. 23, n. 12, p. 571-574, 2007.
- BRUNER, A.G. et al. Effectiveness of parks in protecting tropical biodiversity. *Science*, v. 291, p. 125–128, 2001.
- CARVALHO, B.M. *Aspectos da ecologia de potenciais vetores de leishmanioses (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) na Ilha Grande, Angra dos Reis, Rio de Janeiro*. 2011. 155 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Parasitária) - Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2011.
- CHAPE, S. et al. Measuring the extent and effectiveness of protected areas as an indicator for meeting global biodiversity targets. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, v. 360, p. 443–455, 2005.
- CLEAVELAND, S. et al. Canine vaccination - providing broader benefits for disease control. *Veterinary Microbiology*, v. 117, n. 1, p. 43-50, 2006.
- CLEAVELAND, S.; LAURENSEN, M.K. e TAYLOR, L.H. Diseases of humans and their domestic mammals: pathogen characteristics, host range and the risk of emergence. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, v. 356, n. 1411, p. 991-999, 2001.
- CLUTTON-BROCK, J. *Animals as domesticates: A World View Through History*. Michigan: Michigan State University Press, 2012.
- COORS, A. e DE MEESTER, L. Fitness and virulence of a bacterial endoparasite in an environmentally stressed crustacean host. *Parasitology*, v. 138, p. 122 – 131, 2011.
- CURI, N.H. et al. Factors associated with the seroprevalence of leishmaniasis in dogs living around Atlantic forest fragments. *PlosOne*, v. 9, p. 1–11, 2014.
- DASZAK, P.; CUNNINGHAM, A.A. e HYATT, A.D. Emerging infectious diseases of wildlife - threats to biodiversity and human health. *Science*, v. 287, p. 443-449, 2000.
- ESPARTOSA, K. D.; PINOTTI, B. T. e PARDINI, R. Performance of camera trapping and

track counts for surveying large mammals in rainforest remnants. *Biodiversity and Conservation*, v. 20, p. 2815–2829, 2011.

FENTON, A. e PEDERSEN, A.B. Community epidemiology in theory and practice: a conceptual framework for classifying disease threats in human and wild populations. *Emerging Infectious Diseases*, v. 11, p. 1815–1821, 2005.

FUNG, H. L. et al. Domestic dog health worsens with socio-economic deprivation of their home communities. *Acta Tropica*, v. 135, p. 67-74, 2014.

GOMPPER, M.E. (Ed.) *Free-ranging Dogs e Wildlife Conservation*. Oxford: Oxford University Press, 2014.

HALLIDAY, J. E. et al. A framework for evaluating animals as sentinels for infectious disease surveillance. *Journal of the Royal Society Interface*, v. 4, n. 16, p. 973-984, 2007.

HAYDON, D.T. et al. Identifying reservoirs of infection: A conceptual and practical challenge. *Emerging Infectious Diseases*, v. 8, p. 1468-1473, 2002.

HUDSON, P. J.; DOBSON, A.P. e LAFFERTY, K.D. Is a healthy ecosystem one that is rich in parasites? *Trends in Ecology e Evolution*, v. 21, n. 7, p. 381-385, 2006.

IPCC - Intergovernmental Panel on Climate Change. *Climate Change 2007: Synthesis Report*. Geneva, 2007.

JANSEN, A.M. e ROQUE, A.L.R. Domestic and Wild Mammalian Reservoirs. In: *American Trypanosomiasis – Chagas Disease*. TELLERIA, J. e TIBYARENC, M. (Eds.). London: Elsevier, p. 249–276, 2010.

KARESH, W.B. et al. Wildlife trade and global disease emergence. *Emerging Infectious Diseases*, v. 11, p. 1000–1002, 2005.

KNOBEL, D. L. et al. Dogs, disease and wildlife. In: *Free-Ranging Dogs and Wildlife Conservation*. GOMPPER, M.E. (Ed.). Oxford: Oxford University Press, p. 144-169, 2014.

KOVATS, R.S. et al. Early effects of climate change: do they include changes in vector-borne diseases? *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, v. 356, p. 1057-1068, 2001.

LACERDA, A.C.R.; TOMAS, W.M. e MARINHO-FILHO, J. Domestic dogs as an edge effect in the Brasília National Park, Brazil: interactions with native mammals. *Animal Conservation*, v. 12, n. 5, p. 477-487, 2009.

LAURENSEN, M.K. et al. Identifying disease reservoirs in complex systems: mountain hares as reservoirs of ticks and louping-ill virus, pathogens of red grouse. *Journal of Animal Ecology*, v. 72, p. 177–185, 2003.

LESSA, I.M. et al. Domestic dogs in protected areas: a threat to Brazilian mammals? *Natureza & Conservação*, v. 14, n. 2, p. 46-56, 2016.

MACPHERSON, A.N.L. Human behavior and the epidemiology of parasitic zoonoses. *International Journal for Parasitology*, v. 35, p. 1319-1331, 2005.

MARCOGLIESE, D.J. Parasites: small players with crucial roles in the ecological theater. *EcoHealth*, v. 1, n. 2, p. 151-164, 2004.

MCMICHAEL, A.J. Environmental and social influences on emerging infectious diseases: past, present and future. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, v. 359, p.1049-1058, 2004.

MILLS, J.N.; GAGE, K.L. e KHAN, A.S. Potential Influence of Climate Change on Vector-Borne and Zoonotic Diseases: A Review and Proposed Research Plan. *Environmental Health Perspectives*, v. 118, n. 11, p. 1507-1514, 2010.

NICHOLS, E. e GÓMEZ, A. Conservation education needs more parasites. *Biological Conservation*, v. 144, n. 2, p. 937-941, 2011.

OSTFELD, R.S. e KEESING, F. The function of biodiversity in the ecology of vector-borne zoonotic diseases. *Canadian Journal of Zoology*, v. 78, p. 2061-2078, 2000.

PASCHOAL, A. M. et al. Is the domestic dog becoming an abundant species in the Atlantic Forest? A study case in southeastern Brazil. *Mammalia*, v. 76, p. 67-76, 2012.

PATZ, J.A. et al. Unhealthy landscapes: policy recommendations on land use change and infectious disease emergence. *Environmental Health Perspectives*, v. 112, p. 1092-1098, 2004.

PEDERSEN, A.B. et al. Infectious diseases and extinction risk in wild mammals. *Conservation Biology*, v. 21, n. 5, p. 1269-1279, 2007.

PRICE, P.W. *Evolutionary biology of parasites*. New Jersey: Princeton University Press, 1980.

PYSEK, P. et al. Geographical and taxonomic biases in invasion ecology. *Trends in Ecology and Evolution*, v. 23, p. 237-244, 2008.

RICHARDSON, D.M. *Fifty Years of Invasion Ecology: The Legacy of Charles Elton*. Wales: Wiley-Blackwell, 2010.

ROQUE, A.L. e JANSEN, A.M. Wild and synanthropic reservoirs of *Leishmania* species in the America. *International Journal for Parasitology Parasites and Wildlife*, v. 3, p. 251-262, 2014.

SCHOLES, R.J. e BIGGS, R. A biodiversity intactness index. *Nature*, v. 434, p. 45 – 49, 2005.

SCHRAG, J. e WIENER, P. Emerging infectious disease: what are the relative roles of ecology and evolution? *Trends in Ecology and Evolution*, v. 10, n. 8, p. 319-324, 1995.

SILVA-RODRÍGUEZ, E.A. e SIEVING, K.E. Domestic dogs shape the landscape-scale

distribution of a threatened forest ungulate. *Biological Conservation*, v. 150, n. 1, p. 103-110, 2012.

SIMBERLOFFI, D. e VON HOLLE, B. Positive interactions of nonindigenous species: invasional meltdown? *Biological Invasions*, v. 1, p. 21–32, 1999.

SMITH, K.F.; ACEVEDO-WHITEHOUSE, K. e PEDERSEN, A.B. The role of infectious diseases in biological conservation. *Animal Conservation*, v. 12, n. 1, p. 1-12, 2009.

SNUC - Sistema Nacional de Unidades de Conservação. *Texto da Lei 9.985 de 18 de julho de 2000 e vetos da presidência da República ao PL aprovado pelo congresso Nacional*. 2 ed. São Paulo: Conselho Nacional da Reserva da Biosfera da Mata Atlântica, 2000.

SRBEK-ARAUJO, A.C. e CHIARELLO, A.G. Domestic dogs in Atlantic Forest reserves of south-eastern Brazil: a camera-trapping study on patterns of entrance and site occupancy rates. *Brazilian Journal of Biology*, v. 68, n. 4, p. 771-779, 2008.

ULRICH, Y. e SCHMID-HEMPEL, P. Host modulation of parasite competition in multiple infections. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 279, p. 2982–2989, 2012.

VANAK, A.T.; THAKER, M. e GOMPPER, M.E. Experimental examination of behavioral interactions between free-ranging wild and domestic canids. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, v. 64, n. 2, p. 279-287, 2009.

VANAK, A.T. e GOMPPER, M.E. Dogs *Canis familiaris* as carnivores: their role and function in intraguild competition. *Mammal Review*, v. 39, p. 265–283, 2009.

VANAK, A.T. e GOMPPER, M.E. Interference competition at the landscape level: the effect of free-ranging dogs on a native mesocarnivore. *Journal of Applied Ecology*, v. 47, p. 1225–1232, 2010.

VIANA, M. et al. Assembling evidence for identifying reservoirs of infection. *Trends in Ecology & Evolution*, v. 29, n. 5, p. 270–279, 2014.

WALSH, J.F.; MOLYNEUX, D.H. e BIRLEY, M.H. Deforestation: effects on vector-borne disease. *Parasitology*, v.106 (Suppl), p. 55-75, 1993.

YOUNG, J.K. et al. Is Wildlife going to the dogs? Impacts of feral and free-roaming dogs on wildlife populations. *BioScience*, v. 61, p. 125–132, 2011.

YOUNG, T.P. Natural Die-Offs of Large Mammals: Implications for Conservation. *Conservation Biology*, v. 8, n. 2, p. 410-418, 1994.

LEISHMANIOSE VISCERAL: UM ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DOS CÃES DA ILHA GRANDE, ANGRA DOS REIS – RIO DE JANEIRO

INTRODUÇÃO

As leishmanioses são um grupo de doenças parasitárias endêmicas em 98 países em todo o mundo, com mais de 350 milhões de pessoas vivendo em risco e a incidência anual de casos variando de 0,7 a 1,3 milhão (Desjeux 2004; Alvar *et al.* 2012). Na atualidade, as leishmanioses ocupam a 9ª posição do ranking das doenças infecciosas prioritárias (Who 2012), porém são sistematicamente negligenciadas devido à não compreensão de sua complexidade epidemiológica/ecológica, bem como têm um impacto maior em populações mais pobres, o que reflete o descaso com esta parcela da sociedade. Dentre elas, a leishmaniose visceral (LV) se destaca, sendo de notificação compulsória no Brasil, com ampla distribuição geográfica e altas taxas de mortalidade, especialmente em países menos desenvolvidos (OMS 2017).

1 AGENTES ETIOLÓGICOS DAS LEISHMANIOSES

As leishmanioses são resultantes da infecção por protozoários do gênero *Leishmania*, pertencentes à família Trypanosomatidae, parasitos intracelulares obrigatórios das células do sistema fagocítico mononuclear, sendo protozoários heteroxênicos, pois necessitam de mais de um hospedeiro para completar seu ciclo de vida (Ross 1903). Caracterizam-se por apresentar duas formas: amastigota ou aflagelada, quando é parasito intracelular de macrófagos em tecidos de hospedeiros vertebrados (mamíferos), e promastigota ou flagelada, quando se desenvolve no tubo digestivo de hospedeiros invertebrados (flebotomíneos) (Lainson & Shaw 1987).

A maioria das espécies de *Leishmania* são consideradas como parasitos zoonóticos com humanos agindo como hospedeiros acidentais (Dedet & Pratlong 2003), constituindo um grave problema de saúde pública no Brasil e no mundo.

Quando infectam o homem, as leishmanias afetam o sistema fagocítico mononuclear, pois as formas amastigotas se reproduzem intensamente no interior de macrófagos. A Organização Mundial da Saúde (OMS) classifica as formas clínicas dessas doenças em leishmaniose visceral e leishmaniose tegumentar. Estas doenças apresentam características clínicas e epidemiológicas que variam bastante no Velho e Novo Mundo. No Velho Mundo, as espécies do complexo *L. (L.) donovani* - *L. (L.) infantum* são as causadoras de leishmaniose visceral, com poucos casos relacionados a *L. (L.) tropica* (WHO 2010). No Novo Mundo, *Leishmania infantum syn chagasi* é a espécie responsável pela Leishmaniose Visceral Americana (LVA) (Brasil 2006; WHO 2010; Nardo 2011).

2 OS VETORES

Os vetores das leishmanioses são insetos denominados flebotomíneos, pertencentes à Ordem Diptera, Família Psychodidae, Subfamília Phlebotominae (Cardoso 2014). A principal espécie transmissora da leishmaniose visceral nas Américas é a *Lutzomyia longipalpis*. Estão agrupados na subfamília Phlebotominae, pois são os únicos que apresentam hematofagia entre os demais psicodídeos (Carvalho, 2011; Young & Duncan 1994; Triplehorn & Johnson 2005). Ambos os sexos alimentam-se de seivas vegetais e secreções açucaradas de afídeos, sendo a hematofagia restrita às fêmeas (Carvalho 2011). Existem mais de 900 espécies de flebotomíneos descritas no mundo (PAHO 2014) e, até 2013, 267 destas espécies haviam sido registradas no Brasil, sendo 19 apontadas como vetores de importância médico-veterinária (Shimabukuro & Galati 2010; Andrade *et al.* 2013). Os gêneros de importância sanitária são *Phlebotomus*, no Velho Mundo e *Lutzomyia*, no Novo Mundo (WHO 2010). Embora existam outras formas de transmissão das leishmanioses descritas na literatura como picada de carrapato ou pulga, transfusão sanguínea, transplante de órgão (Silva *et al.* 2002; Michel 2011; Boucekoua *et al.* 2014), a mais comum e frequente é pela picada de dípteros flebotomíneos.

O ciclo de vida dos flebotomíneos é holometabólico, incluindo ovo, quatro estágios larvais, pupa e adulto, estes se diferenciam dos insetos, vulgarmente conhecidos como mosquitos (Diptera: Culicidae), pois seus ovos são colocados diretamente no substrato e as larvas são terrestres, alimentando-se diretamente da matéria orgânica disponível no solo (Carvalho 2011). A duração desse ciclo de vida vai variar de uma espécie a outra e depende das condições ambientais de temperatura, umidade e disponibilidade de alimento (Forattini 1973; Killick-Kendrick 1999; WHO 2010). O período de atividade dos flebotomíneos é crepuscular e noturno (Carvalho 2011). No intra-domicílio, *Lutzomyia longipalpis* é encontrada em repouso principalmente nas paredes dos dormitórios, até o amanhecer. No peri-domicílio, seu período de maior atividade ocorre nos abrigos de animais domésticos durante o mesmo horário. Em ambientes naturais aumentam as dificuldades de se encontrar as formas imaturas desses flebotomíneos (Felicangeli 2004; Alencar *et al.* 2011).

Como abrigos naturais de adultos, podem ser relacionados os espaços nos troncos de árvores ou em folhas caídas no solo, grutas e tocas de animais (Carvalho 2011). Devido à influência humana nos ambientes naturais, criam-se abrigos artificiais que incluem áreas sombreadas e úmidas, como galinheiros e chiqueiros, ou mesmo dentro de residências (Aguiar & Vilela 1987; Killick-Kendrick 1999).

Os flebotomíneos estão envolvidos em outros ciclos de doenças, atuando como vetores de diversos agentes etiológicos em animais humanos e não humanos, como por exemplo, bactérias do gênero *Bartonella* e numerosos arbovírus (Shaw *et al.* 2003), atuando, então, como agentes transmissores das leishmanioses em ambientes urbanos, rurais e florestais (Costa *et. al.* 2007).

A expansão das leishmanioses está ligada às mudanças ambientais antropogênicas, como desmatamento, construção de barragens, sistemas de irrigação e urbanização (Cardoso 2014). As leishmanioses são dependentes do clima, pois seus vetores e reservatórios podem ser afetados por mudanças na precipitação, temperatura e umidade local, alterando a distribuição da doença e influenciando na sua sobrevivência e nos tamanhos populacionais (Cardoso 2014; WHO 2014). Por menores que sejam essas flutuações na temperatura local podem ter um desdobramento perigoso no ciclo de desenvolvimento de *Leishmania* em flebotomíneos, pois permite a transmissão do parasito em áreas anteriormente não endêmicas para a doença (Cardoso 2014).

3 HOSPEDEIROS E RESERVATÓRIOS DE *LEISHMANIA* SPP.

Por apresentar uma alta diversidade genética, os parasitos do gênero *Leishmania* têm capacidade de infectar múltiplos e “novos” hospedeiros, pois apresentam uma grande heterogeneidade genética e ecletismo no que se refere às diferentes ordens de mamíferos que são capazes de contaminar (Carvalho 2011). A detecção da infecção por *Leishmania* em um mamífero hospedeiro não o define como um reservatório, sendo a caracterização de "espécie reservatório" mais ampla de debate. De acordo com as características epidemiológicas, as espécies de parasitos das leishmanioses podem ser divididas em: hospedeiros primários ou reservatórios, os quais mantêm o parasito na ausência de outros hospedeiros; secundários, capazes de transmitir, mas não de manter o parasito na ausência do hospedeiro primário; e acidentais, que usualmente não transmitem o parasito (Quinnell & Courtenay 2009; Ashford 1997; Haydon *et al.* 1997).

As espécies de *Leishmania* que causam LT e LV são encontradas em vários mamíferos silvestres, sinantrópicos e domésticos (Cardoso 2014; Lainson 2010; WHO 2010; Ashford 1996; Lainson & Rangel 2005; Dantas-Torres & Brandão-Filho 2006). Várias espécies de roedores, marsupiais, pilosos, cingulatos, morcegos, primatas e carnívoros silvestres foram registradas como hospedeiros naturais e potenciais reservatórios, bem como suínos e equinos (Rolão *et al.* 2005; Brazil *et al.* 1987; Schubach *et al.* 2004; Souza *et al.* 2009; Dahroug *et al.* 2010; Roque & Jansen 2014).

A proximidade do cão com o homem, somada à presença de formas amastigotas infectivas aos flebotomíneos em sua pele, apontam para a coexistência da LVC com a LV humana, como relatados em estudos pelo Brasil apontam (Alonso 2014). Isto sugere que o cão possa manter e amplificar os ciclos instalados no peridomicílio e confirmam o seu papel como principal reservatório de LV no país (Alonso 2014; Deane & Deane 1955; Alencar *et al.* 1978; Paranhos-Silva 1998). No Brasil, os cães domésticos são considerados os principais hospedeiros de *L. infantum*, mas também há relatos de infecção de cães domésticos por *L. braziliensis* (Aguilar *et al.* 1989; Madeira *et al.* 2003; Castro *et al.* 2007; Quaresma *et al.* 2011) e com infecção mista por *L. infantum* e *L. braziliensis* (Madeira *et al.* 2006; Quaresma *et al.* 2011).

Apesar de o cão ser o protagonista mais importante reservatório doméstico da *L. infantum* (Silva *et al.* 2001), a importância de espécies de gambá, *Didelphis spp.*, como reservatórios silvestres vem aparecendo cada vez mais na literatura, isto se deve sua capacidade sinantrópica que facilitaria a ligação entre os ambientes peridoméstico e silvestre

(Cardoso 2014; Lainson *et al.* 1969). Com a intensificação desse conhecimento, *L. infantum* tem sido detectado frequentemente em *Didelphis spp.* em áreas endêmicas brasileiras (Sherlock 1996; Cabrera *et al.* 2003; Humberg *et al.* 2012; Carreira *et al.* 2012).

O papel dos gatos domésticos (*Felis catus*) na ecoepidemiologia da LV vem sendo discutida a partir de relatos de infecção natural deste felino por *L. (L.) infantum chagasi* (Savani *et al.* 2004; Silva *et al.* 2008; Coelho *et al.* 2011). Ainda não se pode determinar se estes animais são capazes de sustentar um ciclo de transmissão, sendo necessários mais estudos (Maia & Campino 2011), segundo esses autores, a leishmaniose em gatos foi descrita pela primeira vez em 1912 na Argélia, a partir de uma casa onde um cão e uma criança também estavam infectados. Maia & Campino (2011) apontam uma tendência crescente em relação aos gatos como um potencial hospedeiro doméstico de *L. infantum* porque eles são naturalmente suscetíveis à infecção e, na maioria das vezes, não desenvolvem a forma clínica da doença, eles também abrigam os parasitas de maneira disponível para infectar o vetor; e se configuram entre os animais de estimação mais populares em todo o mundo, estando presentes em áreas onde ocorrem os ciclos de transmissão peridoméstico e doméstico do parasita, sendo considerados hospedeiros acidentais ou alternativos aos cães.

Roque & Jansen (2014) revisaram as espécies de mamíferos silvestres e sinantrópicos nas Américas encontrados infectados com *Leishmania spp.*, classificando-os como hospedeiros e/ou "potenciais reservatórios", sendo a última caracterizada pelo potencial de manutenção da infecção ou de transmissibilidade dos parasitos aos vetores.

3.1 Ciclo de transmissão

A epidemiologia das leishmanioses é complexa, partindo-se do pressuposto que é multi-hospedeiro. Somando-se a isso, diferentes espécies de *Leishmania* podem circular na mesma área geográfica (Cardoso 2014).

Segundo Cardoso (2014), as espécies de *Leishmania* mantêm classicamente dois ciclos de transmissão: o domiciliar e o silvestre. O ciclo domiciliar, incluindo o intradomicílio e o peridomicílio, definido como sendo a área existente ao redor de uma residência num raio não superior a cem metros, envolve o homem, os animais sinantrópicos e domésticos e os vetores domiciliados. Algumas espécies de flebotomíneos parecem ter modificado o seu comportamento, afetando seu papel na transmissão das leishmanioses ao adquirir hábitos domiciliares ou peridomésticos (Souza *et al.* 2001).

4 A LEISHMANIOSE NO MUNDO

A leishmaniose visceral é descrita em todos os continentes, com exceção da Oceania (Alonso 2014). No Velho Mundo, a transmissão antroponótica de *L. donovani*, registrada na Índia, Nepal e Bangladesh, é responsável por mais de dois terços de todos os casos de leishmaniose visceral do mundo, seguida pelos focos na Etiópia e Sudão (Quinnell & Courtenay 2009; WHO 2010). Já pontos de transmissão zoonótica de *L. infantum* estão na área do Mediterrâneo, no Oriente Médio e na Ásia ocidental (Quinnell & Courtenay 2009; WHO 2010). No Novo Mundo, os casos ocorrem predominantemente no Brasil (Carvalho 2011) e estima-se que mais de 90% dos casos de LV estão concentrados em Bangladesh, Brasil, Etiópia, Índia, Nepal e Sudão (Alvar *et al.* 2012; WHO 2010).

Segundo a Organização Mundial da Saúde, as leishmanioses afetam principalmente pessoas de baixa renda na África, Ásia e América Latina, e estão associadas à parâmetros de pobreza e constantes migrações da população para áreas com ciclos de transmissão existentes, sendo consideradas uma Doença Tropical Negligenciada (WHO 2014). As condições sanitárias domésticas precárias podem aumentar os locais de criação e proliferação de flebotomíneos, bem como o seu acesso aos seres humanos. A migração e a exposição ocupacional têm mudado o perfil epidemiológico da doença, uma vez que as pessoas, ao se movimentarem ou se estabelecerem em áreas cada vez mais próximas de florestas, acabam por ficar mais próximas do habitat de flebotomíneos (WHO 2014).

Apenas cerca de 600.000 casos de leishmanioses são registrados ao ano (Cardoso 2014). Como a notificação é obrigatória em apenas um terço dos países afetados, a subnotificação não permite um estudo mais preciso do problema (Alvar *et al.* 2012; WHO 2014).

4.1 A leishmaniose no Brasil

Em nosso país, as leishmanioses fazem parte do Sistema Nacional de Informação de Doenças de Notificação Compulsória do Ministério da Saúde e houve uma expansão destes agravos em áreas urbanas e periurbanas, sendo observados ciclos de transmissão de leishmaniose visceral americana (LVA) cada vez mais frequentes em capitais de estados (Brasil 2006; 2007).

A incidência das leishmanioses no Brasil vem apresentando mudanças em seu quadro epidemiológico: inicialmente estava associada ao ambiente rural e periferia das grandes

idades, agora se encontra em expansão pelo país. As leishmanioses atuando como zoonoses de animais silvestres, em que o homem é hospedeiro acidental da doença, restringem-se à Floresta Amazônica, a fragmentos de Mata Atlântica e Cerrado (Carvalho 2011). Em outras regiões brasileiras como Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul, novos perfis epidemiológicos vem surgindo, ocorrendo a transmissão domiciliar ou peridomiciliar (Lainson 1983; Walsh *et al.* 1993; Lainson *et al.* 1994). Destacam-se surtos em cidades como Rio de Janeiro (RJ), Belo Horizonte (MG), Araçatuba (SP), Santarém (PA), Corumbá (MS), Teresina (PI), Natal (RN), São Luís (MA), Fortaleza (CE), Camaçari (BA), Três Lagoas (MS), Campo Grande (MS) e Palmas (TO) (Brasil 2006).

Existem dois padrões epidemiológicos para a LVA, pautados no Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral no Brasil (Brasil 2006):

- a) Padrão clássico: encontrado em ambiente rural, periferia das grandes cidades, onde existe baixo nível sócio-econômico e pobreza;
- b) Padrão recente: encontrado no ambiente urbano, em cidades de médio e grande porte, principalmente nas regiões Sudeste e Centro-Oeste, atingindo outros estratos sociais.

O Brasil detém o maior número de casos na América do Sul e é um dos seis países mais afetados no mundo, sendo a média anual de 28.568 casos autóctones entre os anos de 1985 e 2005 (Brasil 2007). A doença é causada por parasitas da espécie *Leishmania infantum*, cujos vetores são flebotomíneos do gênero *Lutzomyia* (Psychodidae) (Tesh 1995; Duncan 1994), que possui hábitos peridomiciliares e intradomiciliares e pica avidamente humanos principalmente durante o período noturno (Arias; Monteiro & Zicker 1996; Whiteman 2007). A principal espécie transmissora da leishmaniose visceral nas Américas é a *Lutzomyia longipalpis*, conhecida popularmente no Brasil como mosquito palha, birigui, asa dura ou tatuquira, porém a *Lutzomyia intermedia* foi identificada como vetor no litoral do município do Rio de Janeiro e a *Lutzomyia cruzi*, no Mato Grosso do Sul (Marconde & Vasconcellos 2009).

Anteriormente conhecida como uma doença com características rurais, a LV tornou-se endêmica e epidêmica em grandes cidades brasileiras desde a década de 1980 (Brasil 2006). A ocupação urbana desordenada associada à migração, os assentamentos urbanos não planejados e o saneamento precário sucateiam as condições de vida, favorecendo as condições para reprodução de flebotomíneos (Barata 2011; Brasil 2007). Portanto, a pobreza aumenta o risco de leishmaniose, casas pobres com aglomeração de pessoas, más condições sanitárias, criação de animais no peridomicílio favorecem a dispersão do vetor e aumentam sua

proximidade com o ser humano. Segundo Dsjeux (2001), condições de pobreza associadas a dietas deficientes de proteína, ferro, vitamina A e Zinco aumentam a probabilidade de manifestações clínicas da doença.

Cães infectados com leishmaniose visceral canina (LVC) podem permanecer sem sinais clínicos por longos períodos de tempo, servindo como fonte de infecção para o vetor (Bryden 2002; Ferrer *et. al.* 1991). No Brasil, a LVC tem coexistido com a doença humana em todos os focos conhecidos sendo, no entanto, mais prevalente do que a doença humana, geralmente precedendo a mesma (Whiteman 2007). Os cães infectados apresentam sintomatologia que pode variar de aparente estado sadio ao severo estágio de caquexia. O quadro clínico desses animais é semelhante ao humano com período de incubação e pré-patente de três a seis meses até vários anos, com febre irregular de longo curso, palidez de mucosas e emagrecimento progressivo, até o estado terminal (Whiteman 2007). Outros sinais clínicos no cão são apatia, lesões cutâneas (principalmente descamação, eczema e úlceras) em geral no focinho, orelhas e extremidades, conjuntivite, paresia do membro posterior, fezes sanguinolentas e crescimento exagerado das unhas – onicogrifose (Marzochi *et al.* 1985). A imunossupressão causada pela leishmaniose pode promover a ocorrência de infecções oportunistas concomitantes como *Ehrlichia canis*, *Babesia* sp., *Dirofilaria immitis*, *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* (Marcondes 2014).

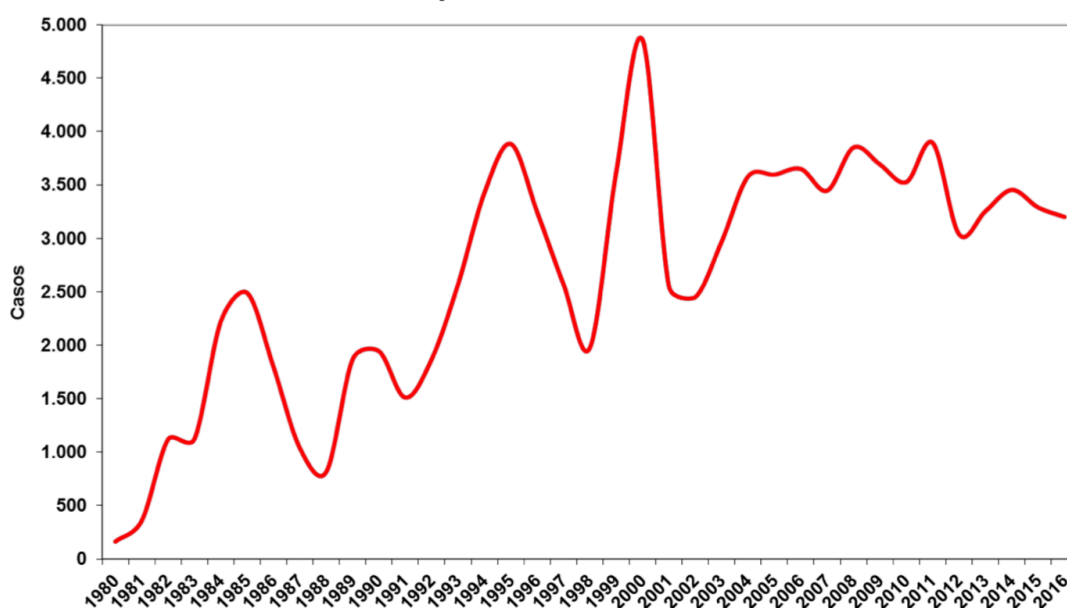
O único medicamento de uso veterinário contra a leishmaniose registrado no país teve o seu uso autorizado em 2016. A droga é capaz de reduzir a transmissibilidade da doença, mas não representa a cura definitiva para o animal infectado, não sendo considerado pelo Ministério da Saúde brasileiro como uma medida de saúde pública. Isso significa que, embora tenha a carga parasitária reduzida e os sintomas sejam amenizados, o cão submetido ao tratamento deverá passar por monitoramento periódico e pode ter que receber novos ciclos do medicamento para que a LVC seja contida. O controle do reservatório canino em áreas endêmicas ainda é feito através da realização de inquéritos sorológicos e abate de cães soropositivos, segundo orientação do Ministério da Saúde, sendo essa medida questionável (Anexo A). Em animais silvestres infectados, a eutanásia precisa ser previamente analisada, visto que algumas espécies são ameaçadas de extinção (lobo-guará e o cachorro-vinagre, por exemplo) e não existem informações suficientes até o momento sobre o potencial de transmissão das diversas espécies de carnívoros brasileiros (Rocha 2013). Enquanto a prevalência da infecção em cães em áreas endêmicas pode chegar a mais de 50%, a incidência da doença em humanos nas mesmas áreas varia de 1 a 2%. É importante salientar que a prevalência de infecção canina é maior que a soroprevalência, isto é, muitos cães

infectados não desenvolvem resposta imune humoral e, portanto, não são identificados por meio de métodos sorológicos. Com a utilização de técnicas moleculares de diagnóstico, sabe-se atualmente que, para cada cão sintomático vivendo em área endêmica, existem cerca de cinco cães assintomáticos (Marcondes 2014).

As medidas de controle de LV no Brasil são pautadas no tratamento dos casos humanos, controle do vetor pelo uso de inseticidas e controle de reservatório canino como citado anteriormente (Brasil 2013), a figura 1 mostra flutuação através dos anos no Brasil (1980 a 2016). Como medida preventiva, no caso de animais de cativeiro, é recomendado o uso permanente de coleiras impregnadas com deltametrina e controle químico por borrifação de piretróide a cada três meses para áreas endêmicas (Luppi *et al.* 2008).

Segundo Ready (2008) as alterações climáticas influenciam a ecoepidemiologia das leishmanioses de três formas: diretamente, no desenvolvimento do parasito e competência vetorial dos flebotomíneos; indiretamente, na distribuição e abundância dos flebotomíneos; e indiretamente, através de mudanças socioeconômicas que interfiram no contato do homem com os ciclos de transmissão. Ainda segundo o autor as leishmanioses se caracterizam como "epidemiologias de paisagem", reconhecendo que os fatores de risco são qualitativos e devemos avaliar pontualmente o local onde a doença esta inserida, o que dificulta fomentar e transpor "modelos" espaciais para além da área em que foram desenvolvidos.

Figura 1 - Casos de leishmaniose visceral humana no Brasil, 1980 a 2016.



Fonte: SVS/MS.

4.2 Leishmaniose visceral no Estado do Rio de Janeiro

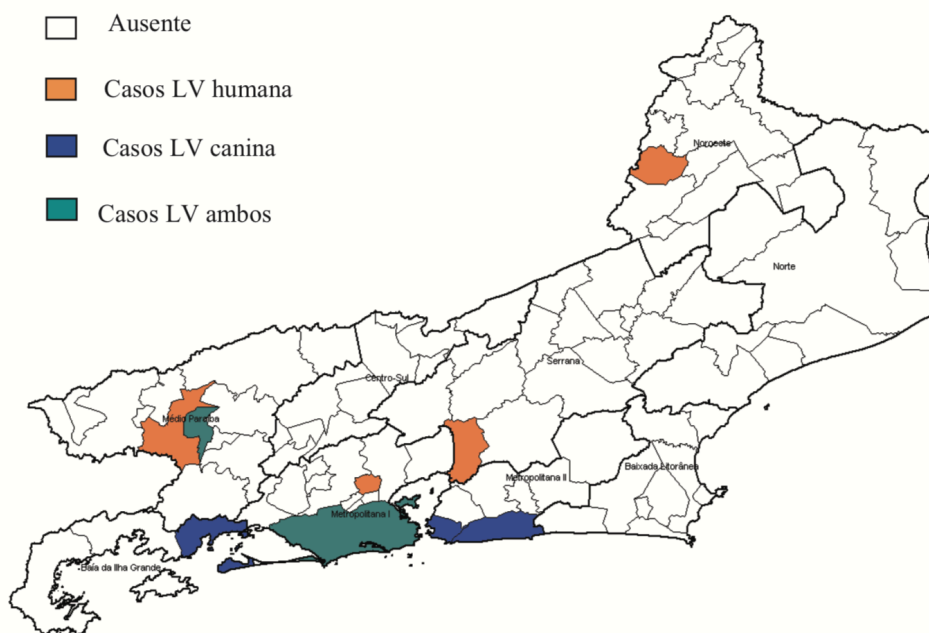
No Estado do Rio de Janeiro, a LV foi descrita pela primeira vez em 1977 na região periurbana do bairro de Bangu, cidade do Rio de Janeiro, onde o homem acometido pela doença veio a óbito com 55 anos (Salazar *et al.* 1979). Na mesma ocasião houve o isolamento do parasito no reservatório canino (Marzochi *et al.* 1981) e a identificação de *Lutzomyia longipalpis* (Souza *et al.* 1981).

A transmissão da LV no Estado do Rio de Janeiro é considerada esporádica (média menor que 2,4 casos humanos anuais), mas em expansão tanto espacialmente quanto em número de casos (Alonso 2014). 87 casos autóctones foram diagnosticados, até agosto de 2006, em áreas peri-urbanas da cidade do Rio de Janeiro, na zona oeste da cidade (Marzochi *et al.* 2009). Já em 2019 tivemos a morte de uma criança no município de Rio de Janeiro, na zona norte da cidade. Entre 2007 a 2012, 18 casos de LV foram notificados em Volta Redonda, Barra Mansa e Miracema (dados do SMS/MS 2012), mostrando que a doença não vê barreiras geográficas.

Lopes *et al.* (1994) identificaram uma sobreposição de casos de leishmaniose visceral canina (LVC) e humana entre 2007 e 2012 nos municípios de Volta Redonda e Rio de Janeiro, apesar da literatura apontar dezenas de caso de LVC identificados, a cada ano, em áreas sem LV humana (dados SMS/RJ).

Nos últimos anos, a LVC sofreu dispersão, chegando em áreas antes não reportadas com a doença no Estado do Rio de Janeiro, mostrando a importância de estudos preventivos nos cães que atuam como sentinelas da LV, antecipando, assim, o controle da doença (Figura 2).

Figura 2 - Distribuição dos casos caninos e humanos de LV no Estado do Rio de Janeiro 2007- 2012.



Fonte: Sinan/GDTVZ

4.3 A leishmaniose visceral na Ilha Grande

Existe um registro de LVA na Ilha Grande em 2005 (Carvalho 2011). O paciente era um menino de cinco anos de idade, residente da Praia de Fora, localizada na Enseada das Estrelas, que recebeu tratamento adequado e não apresentou mais sintomas da doença (Carvalho 2011). Na época do caso, a investigação epidemiológica confirmou a autoctonia do caso, pois o menino havia nascido na ilha e não costumava viajar (Carvalho 2011). Nas capturas de flebotomíneos realizadas no peridomicílio da residência do paciente, as espécies identificadas foram *L. intermedia*, *L. migonei* e *L. fischeri*. Como não havia sido encontrado o vetor principal da doença (*L. longipalpis*), novas capturas foram realizadas em 2007. Foram detectadas as espécies *L. intermedia* e *L. pessoai*, porém não foi detectada a presença de *L. longipalpis* novamente (Carvalho 2013). Em 2002, Souza e colaboradores realizaram capturas de flebotomíneos na Vila do Abraão a partir da notificação de um caso de LVC, onde foram identificadas cinco espécies: *L. intermedia*, *L. migonei*, *L. tupyumbai*, *L. pelli*, *L. schreiberi*. Como o cão infectado era mantido solto não se descarta a possibilidade que tenha adquirido a doença em outra região (Souza *et al.* 2009).

5 OBJETIVOS

Dentro desse contexto, o objetivo deste capítulo foi mapear a presença de *Leishmania* spp. na região da Ilha Grande, município de Angra dos Reis – Estado do Rio de Janeiro, através de um estudo epidemiológico do reservatório doméstico (*Canis lupus familiares*), usando como ferramentas exames sorológicos, parasitológicos e moleculares.

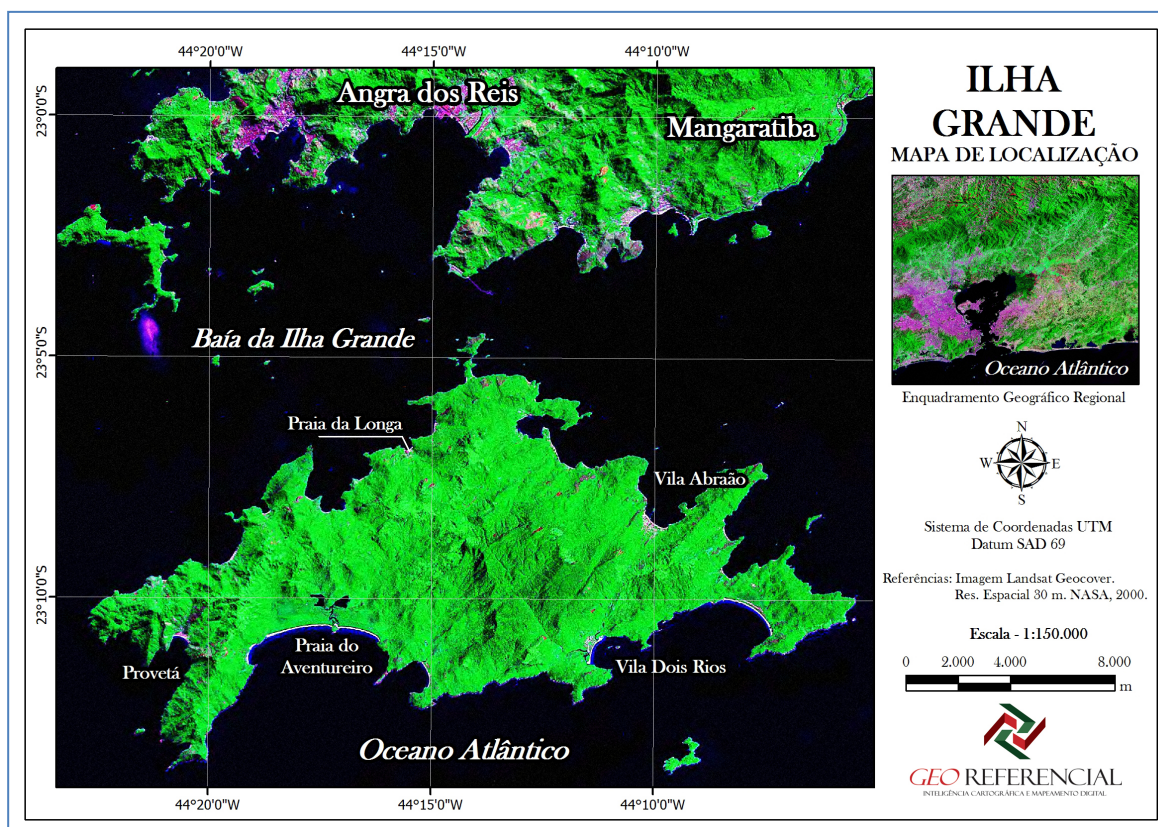
Adicionalmente, analisar, através de bibliografia, áreas de ocorrência do flebótomo transmissor da LV na Ilha Grande para que possamos ver a sobreposição com os nossos dados de prevalência e, assim, com os padrões de infecção mapeados direcionar medidas para o controle da doença.

6 MATERIAL E MÉTODOS

6.1 Características da área estudada

A Ilha Grande está inserida em uma baía que recebe seu nome, Baía da Ilha Grande, localizada ao sudoeste do estado do Rio de Janeiro ($22^{\circ}50' - 23^{\circ}20' S$, $44^{\circ}00' - 44^{\circ}45' W$) e é composta pelos municípios de Angra dos Reis e Paraty (Figura 3). A Ilha Grande compreende um dos maciços costeiros associados à vertente atlântica da Serra do Mar no estado do Rio de Janeiro. Possui uma área de 19.000ha.

Figura 3 - Mapa da região da Ilha Grande.



Fonte: UERJ

A Ilha Grande é a terceira maior ilha brasileira e a maior do estado do Rio de Janeiro, com 193 quilômetros quadrados de área, tendo 13 quilômetros em sua maior largura e 36 quilômetros no maior comprimento. Possui numerosos cabos e enseadas e mais de 100 praias distribuídas em seus 155 quilômetros de contorno. O clima da região onde se insere a Ilha Grande é tipicamente tropical, com temperatura e precipitação bastante elevadas nos meses de verão, sendo a temperatura média anual de $24^{\circ}C$. A característica climatológica de maior

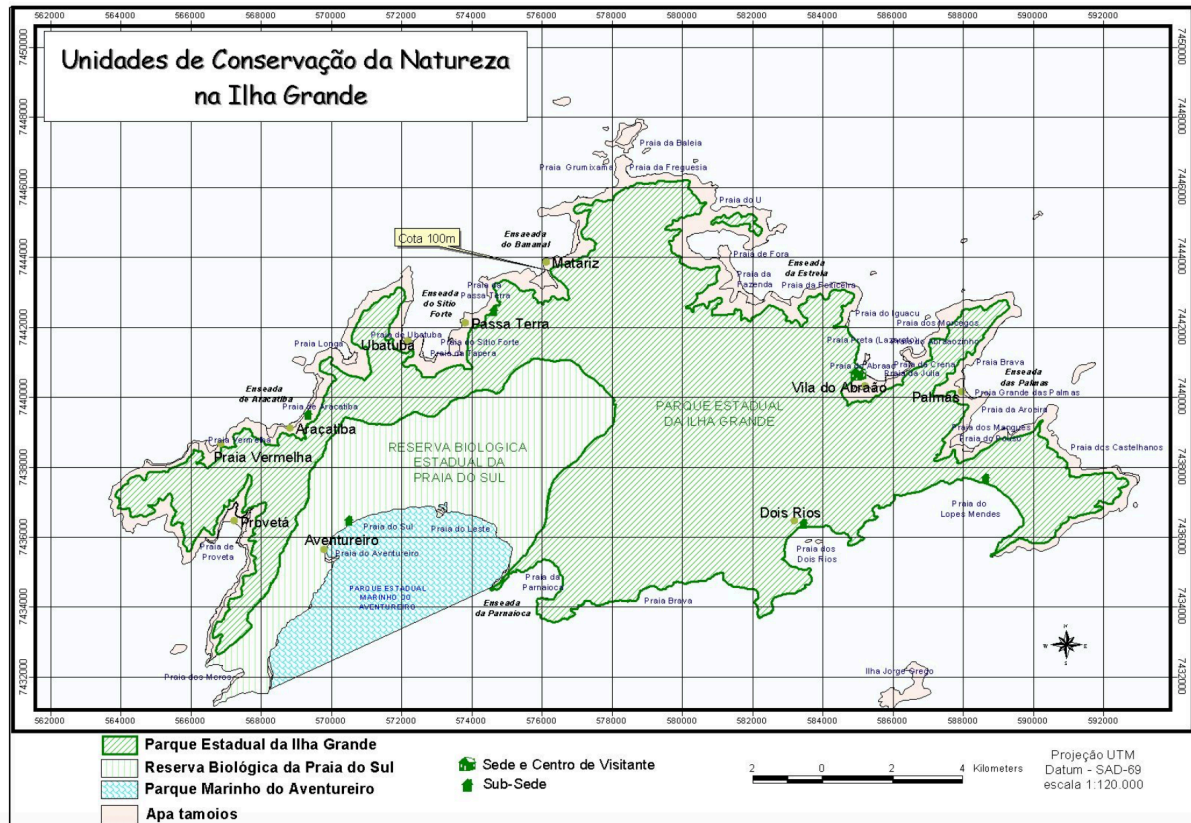
destaque é a grande pluviosidade, ocorrendo chuvas extremas com frequência significativa. A Serra do Mar constitui uma barreira orográfica de fundamental importância para a elevada precipitação registrada na região, que geralmente atinge pluviosidade anual acima de 2000 mm (Salgado 2009).

A Ilha Grande está inserida no bioma Mata Atlântica, no domínio da Floresta Pluvial Tropical Atlântica, e apresenta um diversificado conjunto de habitats associados. Predomina a Floresta Ombrófila Densa (montana e submontana) e, em menor proporção, ocorrem as áreas de formação pioneira de influência marinha (restinga), fluvio-marinha (mata alagadiça e manguezal) e os afloramentos rochosos (Callado *et al.* 2009). Essa multiplicidade de ambientes, determinada por variáveis geológicas, climáticas e hidrográficas, confere considerável diversidade biológica à Ilha, com inúmeras espécies endêmicas da flora e da fauna, algumas das quais ameaçadas de extinção em outras regiões do Estado (Alho *et al.* 2002).

Com a construção da rodovia Rio-Santos (BR 101) no início da década de 1970, o acesso à Ilha foi facilitado, houve uma redução da atividade pesqueira e o encerramento do presídio nos anos 90, com o turismo se tornando a atividade econômica preponderante na ilha, se enquadrando, majoritariamente, dentro da categoria de ecoturismo. Hoje, esta é a principal atividade econômica e a que mais gera renda e empregos na Ilha Grande (Araujo *et al.* 2005; Agência 21 2008).

A Ilha Grande está incluída na Reserva da Biosfera da Mata Atlântica pela UNESCO desde 1992. Atualmente abriga quatro UCs que a abrangem parcialmente ou integralmente, nas esferas estadual e federal: Área de Proteção Ambiental de Tamoios (APA Tamoios), Parque Estadual da Ilha Grande (PEIG), Parque Estadual Marinho do Aventureiro e Reserva Biológica Estadual da Praia do Sul (Figura 4).

Figura 4 - Unidades de Conservação da Ilha Grande.



Fonte: INEA

6.2 Declaração de ética e biossegurança

O presente trabalho teve primeiramente a aprovação e apoio da Associação de Moradores da Ilha Grande (Anexo B), bem como do INEA, gestor das Unidades de Conservação na Ilha Grande. A equipe do projeto manteve uma conduta adequada no manejo dos animais, seguindo as orientações vigentes para evitar a dor nos indivíduos pesquisados tanto durante o procedimento quanto após, seguindo os procedimentos de manipulação animal recomendados do COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal) e do Comitê de Ética Animal da FIOCRUZ (Fundação Instituto Oswaldo Cruz) do Ministério da Saúde do Brasil. O projeto foi aprovado, sob o aspecto ético e legal, pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA) do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes (032/18) (Anexo C). As amostragens foram realizadas com o consentimento obtido do chefe do agregado familiar ou outro indivíduo responsável.

6.3 Localidades estudadas no levantamento epidemiológico para leishmaniose visceral na Ilha Grande

Foram escolhidas 10 vilas ao redor de toda a Ilha, a descrição das áreas podem ser obtidas em Agenda 21 (2006) e INEA (2011). Estas foram escolhidas de acordo com os maiores adensamentos humanos, já que nosso levantamento só coletou amostras de cães domiciliados ou que tivessem alguém para se responsabilizar pelos mesmos. As vilas amostradas foram: Provetá, Araçatiba, Praia Longa, Sítio Forte, Matariz, Bananal, Saco do Céu, Abraão, Palmas e Dois Rios (Figura 5).

Figura 5 - Alfinetes amarelos indicando a localização das vilas amostradas no inquérito epidemiológico de leishmaniose visceral canina na Ilha Grande.



6.4 Inquérito canino: sensibilização da população

Para o inquérito epidemiológico dos cães, foi previamente realizada uma entrevista com os moradores das vilas amostradas, por meio de visita domiciliar da equipe de trabalho, com apresentação de material informativo sobre LV (produzido pela FIOCRUZ) e aplicação de um questionário (Anexo D), que objetivou à sensibilização da população sobre a doença, a

explicação do trabalho a ser executado, bem como a familiarização com os pesquisadores, tão importante em qualquer trabalho que envolva seres humanos.

6.5 Amostragem

A coleta de sangue dos cães foi realizada em cinco expedições, entre maio e julho de 2018. Foram amostrados 392 cães com mais de seis meses de idade. Um exame clínico completo dos cães foi realizado (com foco nas alterações clínicas da leishmaniose visceral, como perda de peso, lesões na pele, crescimento excessivo das unhas e aumento do volume do fígado e baço). Fatores relacionados ao manejo e comportamento animal (número de cães, mobilidade de cães, acesso de cães às regiões de mata, interações com a fauna silvestre, tratamento de ectoparasitas, presença de atratores vetoriais em habitações peridomésticas (outras espécies domésticas), características individuais e clínicas dos cães: sexo, idade, altura, tipo de pelagem, raça, esterilização, condição corporal, alterações clínicas e presença de ectoparasitas, como pulgas e carrapatos e coordenadas geográficas foram registrados para cada domicílio. Também foram coletados ectoparasitos dos animais amostrados para posterior estudo dentro do grupo de pesquisa (Figura 6).

Figura 6 - Coleta de ectoparasitas dos cães amostrados.



6.5.1 Coleta de Sangue

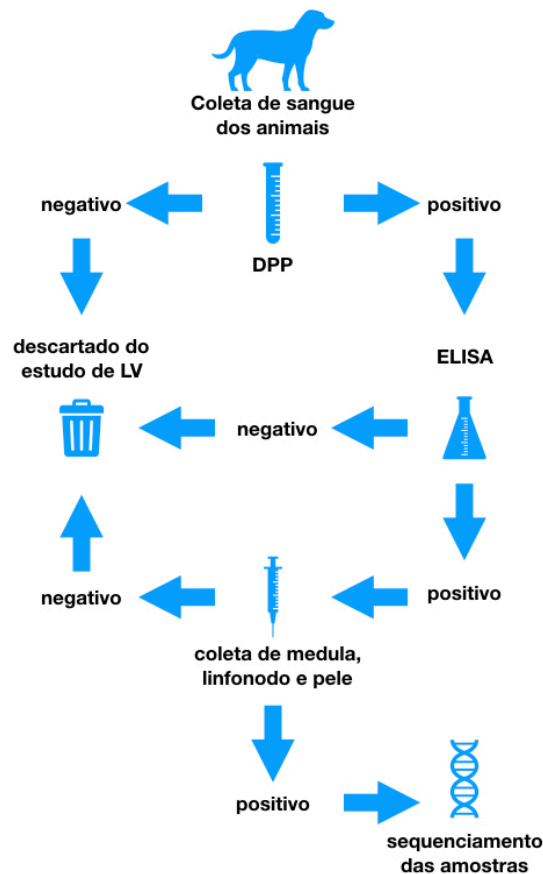
Seguindo corretamente as normas de antissepsia e biossegurança, os animais foram submetidos a coleta de sangue por profissionais capacitados da Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ. O sangue foi coletado por venopunção da veia cefálica (membro anterior),

utilizando-se seringas descartáveis de 5 ml acopladas em agulhas de calibre 25x8mm, estéreis, coletando-se um volume total de 3 mL, com o uso de focinheira e contenção manual. As amostras foram transportadas sob refrigeração, e por centrifugação o soro foi separado e conservado a -20 °C até o momento da realização dos testes.

Integraram o processo de entrevistas e coleta de sangue dos cães, além da pós-graduanda, uma pós-doutoranda (UERJ), dois veterinários (FIOCRUZ) e um técnico de laboratório (FIOCRUZ).

As amostras foram processadas de acordo com o fluxograma (Figura 7).

Figura 7 - Fluxograma das atividades laboratoriais realizadas para identificar a presença de leishmaniose visceral na região da Ilha Grande.



6.5.2 Análise Laboratorial – Testes Sorológicos

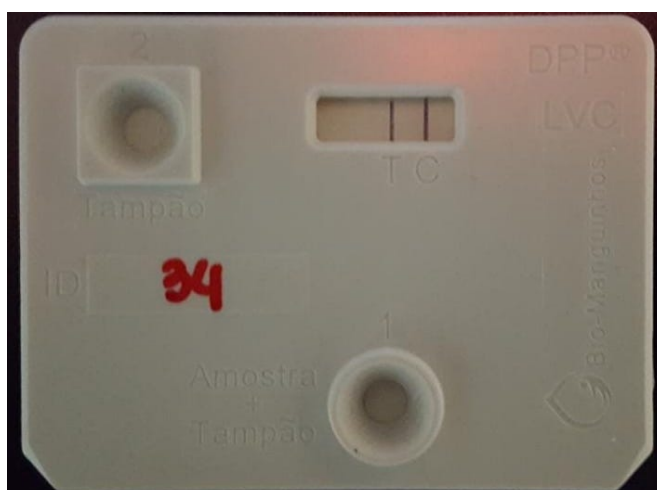
Para as análises, foram usadas as 392 amostras de soro na realização do teste Rápido Qualitativo para a detecção de anticorpos dos cães contra *Leishmania* sp., o TRDPP Leishmaniose Visceral Canina Bio-Manguinhos®, kits Biomanguinhos® (Fiocruz,

Manguinhos, Rio de Janeiro, Brasil) (Figura 8). As amostras eram processadas para o teste ao final do dia de coleta.

O Ensaio Imunoenzimático Indireto (ELISA - Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) só foi realizado para as amostras positivas no teste DPP, como preconiza o Ministério da Saúde brasileiro, sendo este realizado no Laboratório de Zoonoses e Doenças Parasitárias da FIOCRUZ.

Estes testes são atualmente utilizados para o diagnóstico de LVC em áreas endêmicas pelos laboratórios de saúde pública. Os resultados ELISA são expressos em valores de absorbância, e o teste DPP fornece interpretação visual da soropositividade.

Figura 8 - Exemplo de teste positivo TRDPP Leishmaniose Visceral Canina Bio-Manguinhos[®] de cão doméstico (*Canis lupus familiaris*) de Ilha Grande, Rio de Janeiro.



6.5.3 Análise Laboratorial – Testes Parasitológicos

ELISA e DPP são atualmente empregados para triagem epidemiológica e controle da LVC no Brasil, porém esses testes sozinhos podem apresentar baixa precisão, pois não é possível descartar reações cruzadas com outros protozoários. Portanto, se faz necessária uma maior investigação com a comunhão de outros testes, como os parasitológicos e moleculares.

Os cães que apresentaram positividade para LVC também no ELISA (teste de diagnóstico de referência) foram submetidos à punção de linfonodo, punção de medula óssea e biópsia de pele íntegra (Figura 9).

Figura 9 - Realização da punção de linfonodo, punção de medula óssea e biópsia de pele íntegra nos cães domésticos (*Canis lupus familiaris*) positivos no teste de Ensaio Imunoenzimático Indireto em Ilha Grande, Rio de Janeiro.



6.6 Sedação

Após a avaliação clínica, realizou-se a sedação do animal com cloridrato de quetamina (10 mg/kg) associado ao maleato de acepromazina (0,2 mg/kg) por via intramuscular, e posteriormente o animal foi colocado sobre uma mesa de aço inoxidável para a coleta de espécimes clínicos.

6.7 Biópsias de pele

Para a coleta do fragmento cutâneo por meio de biópsia, realizou-se tricotomia com lâmina de aço inoxidável descartável, antisepsia e anestesia local com lidocaína a 2%. Foram coletados quatro fragmentos de pele íntegra da região escapular de cada animal, utilizando “punch” de 3mm para exames parasitológicos direto e indireto. Dois fragmentos foram armazenados em salina, na tentativa do isolamento em cultura, e dois foram armazenados em formalina tamponada a 10%, para a realização dos exames histopatológico e imunohistoquímico. Das lesões tegumentares, quando presentes, também foram coletados

dois fragmentos para exames parasitológicos.

6.8 Punção aspirativa de medula óssea

Em todos os animais tentou-se realizar o aspirado de medula óssea (MO), obtido do manúbrio do esterno, utilizando seringa de 20mL com agulha 40x12mm, após tricotomia, antissepsia e anestesia local com lidocaína 2%. O material obtido foi acondicionado em tubo contendo meios de cultura NNN e Schneider acrescido de 10% de soro fetal bovino, sendo enviado para a cultura parasitológica, na tentativa do isolamento da *Leishmania* spp., e também acondicionado em tubo estéril com EDTA, acrescido do fixador “*cell block*” para a realização da imunohistoquímica, na tentativa da visualização de formas amastigotas.

6.9 Isolamento parasitário em meio de cultura

Os fragmentos teciduais de pele, logo após a biópsia, foram mergulhados em solução salina tamponada com fosfato (PBS), pH 7,4, acrescido de antibióticos (penicilina e estreptomicina) e antifúngico (fluorocitocina) e conservados à temperatura de 4°C por 24 horas. Após tal período, as amostras foram semeadas em meio bifásico NNN (Novy, MacNeal, Nicole) contendo como fase líquida o meio Schneider acrescido de 10% de soro fetal bovino. Cerca de 0,2mL de MO, obtida por punção, foi semeada diretamente no meio de cultura. As culturas foram conservadas em estufa biológica a 26-28°C e examinadas semanalmente durante 30 dias por exames a fresco, buscando evidenciar formas flageladas. Nos casos onde ocorreu o isolamento parasitário, as amostras foram expandidas para produção de massa parasitária para posterior caracterização isoenzimática.

Os proprietários foram orientados a entrar em contato com o responsável pelo projeto de pesquisa em caso de dúvidas ou qualquer alteração no estado clínico do animal estudado, via telefone fornecido no termo de consentimento, previamente assinado pelo mesmo (Anexo E).

A cultura, isolamento e caracterização fenotípica foram realizadas no Laboratório de Zoonoses e Doenças Parasitárias da FIOCUZ.

Adotamos o critério preconizado pelo ministério da saúde, onde consideramos a amostra positiva se a mesma foi positiva para os testes DPP (teste rápido) e ELISA (confirmatório).

6.10 Análise Estatística

Os resultados obtidos pelos testes sorológicos foram avaliados utilizando o Systat 13 no qual a associação entre as variáveis foi testada com a utilização do teste qui-quadrado (X^2) para sexo, tipo de confinamento (preso/solto), tamanho corporal, criação de galinhas e nascido dentro ou fora da Ilha Grande, com a significância estatística determinada se o “P” menor ou igual a 0,05.

7 RESULTADOS

Nós coletamos amostras de 392 cães, a razão sexual foi de 8:5 (242 machos:150 fêmeas), e a idade média foi de 4 anos e 9 meses, indo de 7 meses a 10 anos. Ectoparasitas (pulgas ou carrapatos) foram encontrados em 70% dos cães aproximadamente, com baixos índices de tratamento preventivo. Menos de 20% dos cães eram esterilizados (73 animais). O número médio de cães por domicílio amostrado foi de 1,35 cães por domicílio, e 20% dos cães são mantidos com restrição de espaço (84/392). Dados sobre local de coleta, número de cães amostrados, número de cães positivos no DPP, número de cães positivos no DPP + ELISA, média de idade dos cães amostrados, e média de idade dos cães soropositivos, encontram-se na tabela 1.

O sequenciamento molecular da amostra analisada foi obtido e comparado com sequências de diferentes espécies de tripanosomatídeos depositadas no GenBank, sinalizando que a amostra é geneticamente idêntica ao de *Trypanosoma caninum*. A porcentagem de similaridade do isolado encontra-se no anexo F.

Tabela 1 - Inquérito sorológico de *Leishmania spp.* em cães domésticos (*Canis lupus familiaris*) em Ilha Grande, Rio de Janeiro. A tabela indica os locais de coleta, número de cães amostrados, número de cães positivos no teste rápido qualitativo para Leishmaniose Visceral Canina (TRDPP) e no Ensaio Imunoenzimático Indireto (ELISA), bem como a média de idade de cães amostrados e soropositivos.

Local	Cães amostrados	Cães positivos no DPP	Cães positivos no DPP + ELISA	Média de Idade dos cães amostrados	Média de Idade dos cães soropositivos
Abraão	160	3	0	5,5 anos	0
Palmas	21	0	0	3,4 anos	0
Dois Rios	18	0	0	4,5 anos	0
Provetá	40	0	0	9,8 anos	0
Araçatiba	27	2	1	5,7 anos	2 anos
Longa	18	2	0	2,7 anos	0
Matariz	29	2	1	2,8 anos	3 anos
Bananal	11	0	0	3,7 anos	0
Saco do Céu	65	2	2	4,2 anos	7 anos

Dos 392 cães amostrados, 12 possuíam lesão cutânea, 5 apresentavam magreza intensa (caquexia), 2 apresentavam cerato-conjuntivite crônica e 3 dermatite esfoliativa.

7.1 Sorologia

O teste sorológico TRDPP para Leishmaniose Visceral Canina para soropositividade global resultou 2,8% (11/392) de positivos. Destes, quatro foram confirmados pelo teste de ELISA. Três dos 11 cães positivos no DPP (27%) eram sintomáticos para a leishmaniose visceral, apresentando sinais clínicos como perda de peso, lesões na pele e onicogrifose. A vila com o maior número de animais positivos no DPP foi Praia Longa (2/18), seguida por Araçatiba (2/27), e Matariz (2/29). Em alguns domicílios com cães soropositivos, verificamos a presença de elementos associados a LV como criação de galinhas, gansos e patos (Tabela 3).

Tivemos 4 amostras confirmadas de LVC em 3 das 10 localidades pesquisadas Saco do Céu (2/65), Matariz (1/29) e Araçatiba (1/27) (Tabela 4).

7.2 Extração de DNA

Em cada microtubo foi aplicado 1ml do DNAZOL (INVITROGEN®) e 100 µl da massa de cultura e submetidos à centrifugação (10.000 rpm/10 minutos). O sobrenadante obtido foi transferido para um novo microtubo contendo 500µl de etanol. Após homogeneização, as amostras foram novamente centrifugadas (6.000 rpm/ 5 minutos) e o sobrenadante desprezado. O sedimento obtido foi lavado com etanol 75% por processo de centrifugação (13.000 rpm/1 min) e após descarte do sobrenadante, foi adicionado ao pellet 25 µl de TE (TRIS-EDTA).

7.3 Protocolo da PCR para região 18S rDNA

O protocolo da PCR para a região 18S rDna seguiu a metodologia do protocolo padrão (Noyes *et al.* 1999; Smith *et al.* 2008).

7.3.1 Sequenciamento molecular

O sequenciamento molecular foi realizado utilizando os produtos de amplificação do segundo round da PCR com alvos para a região do 18S rDNA. Após a PCR, os produtos amplificados foram purificados com kit Quiackiq (Quiagen) seguindo orientações do fabricante. As sequências de nucleotídeos foram determinadas em sequenciador automático (3730 DNA Analyzer, Applied Biosystems) na plataforma de sequenciamento da Fiocruz e analisadas com o programa Blast (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) e programa MEGA 5.1 (Tamura *et al.* 2013).

Os 4 animais que apresentaram soropositividade também para o ELISA foram submetidos a teste parasitológico de cultura e identificação dos isolados parasitários. Dos 4 animais testados, nenhum era sintomático para a doença. As amostras foram processadas conforme a descrição do item materiais e métodos e os resultados são apresentados na tabela 4.

Tabela 2 - Características individuais de cães domésticos (*Canis lupus familiaris*) soropositivos no teste TRDPP para Leishmania Visceral na Ilha Grande, Rio de Janeiro.

Raça/ Número do animal	Sexo	Idade	Pelagem	Sinais Clínicos	Criação (Preso/Solto)	Entra na Mata	Localidade (Vilas Amostradas)	Observações
Pequinês/ 2	M	7 anos	Longa	-	Preso	Acompanhado do dono	Abraão	-
SRD/ 26	F	10 anos	Longa	-	Solto	Não	Abraão	Presença de Mosquitos
SRD/ 34	M	Adulto	Longa	-	Solto	Sim	Abraão	O animal caça
SRD/ 201	F	8 anos	Longa	-	Solto	Não	Saco do Céu	Criação galinha/ganso – Presença de mosquitos
Fox Paulistinha/ 214	M	6 anos	Curta	-	Preso	Não	Saco do Céu	Criação galinha/ganso
SRD/ 312	F	8 anos	Média	Alopecia/ Lesões na pele	Solto	Sim	Araçatiba	Criação galinha
SRD/ 344	M	2 anos	Curta	-	Solto a noite	Sim	Araçatiba	Px Criação de galinhas
Dálmata/ 342	M	2 anos	Curta	Perda da peso/ Lesões na pele/ onicogrifose	Preso	Não	Praia Longa	-
SRD/343	F	7 meses	Média	-	Solta	Não sabe dizer	Praia Longa	-
SRD/ 382	F	4 anos	Curta	-	Solta	Sim	Matariz	Criação de galinhas
SRD/ 391	F	3 anos	Curta	-	Solta	Sim	Matariz	Px Criação de galinhas

Tabela 3 - Resultado dos testes sorológicos e parasitológicos de cães em algumas localidades na Ilha Grande, onde + indica um resultado positivo, e – indica um resultado negativo para o teste. Caixas marcadas com 0 indicam que o procedimento não foi realizado.

Número do Cão	Local	DPP +	ELISA +	Amostra Processada			Resultado do Isolamento
				Pele Inteira	Punção de Medula Óssea	Punção de Linfonodo	
02	Abraão	+	-	0	0	0	0
26	Abraão	+	-	0	0	0	0
34	Abraão	+	-	0	0	0	0
201	Saco do Céu	+	+	-	-	-	0
214	Saco do Céu	+	+	-	-	-	0
312	Araçatiba	+	-	0	0	0	0
344	Araçatiba	+	+	+	-	-	<i>Trypanosoma caninum*</i>
342	Praia Longa	+	-	0	0	0	0
343	Praia Longa	+	-	0	0	0	0
382	Matariz	+	-	0	0	0	0
391	Matariz	+	+	-	-	-	0

*Confirmado por PCR (Reação em Cadeia da Polimerase)

Apenas uma amostra deu positivo nos testes parasitológicos, a do canino 344, a qual seguiu para análise molecular para a confirmação do parasito. A correlação estatística do DPP e do ELISA com as variáveis ambientais e características individuais dos cães revelou uma correlação positiva ($p=0,001$) entre os cães infectados com LVC e a criação de galinhas no peridomicílio, porém tamanho corporal, tipo de confinamento (preso/solto) e condição corporal não influenciaram a soropositividade nesses animais (tabela 5).

Tabela 4 - Efeito do sexo, tamanho corporal (pequeno, médio e grande), condição corpórea (bom, alopecia, lesões na pele, magro), tipo de confinamento (preso ou solto) e criação ou não de galinhas e idade (<1, 2-4, 5-8, >9 anos) na soropositividade de *Leishmania spp* na Ilha Grande, Estado do Rio de Janeiro. X^2 refere-se ao valor do teste qui-quadrado e P, o nível de significância do teste. A célula marcada indica valor significativo.

	<i>Leishmania spp</i> (DPP)	<i>Leishmania spp</i> (Elisa)
Sexo	$X^2=0.673$ P=0.412	$X^2=0.089$ P=0.765
Tamanho do corpo	$X^2=0.007$ P=0.997	$X^2=0.528$ P=0.768
Condição corpórea	$X^2=4.968$ P=0.174	$X^2=0.446$ P=0.931
Confinamento do animal	$X^2=0.088$ P=0.767	$X^2=0.004$ P=0.947
Criação de galinhas	$X^2=8.358$ P=0.004	$X^2=16.384$ P=0.001

8 DISCUSSÃO

Este é o primeiro registro de *Trypanosoma caninum* para a região da Ilha Grande. Este é um cenário epidemiológico recém descrito no Brasil e um parâmetro envolvido em reações cruzadas nos estudos de leishmaniose visceral canina. Este parasito foi descrito no município do Rio de Janeiro pela primeira vez em 2003 (Madeira 2006) e o presente estudo deixa claro que existe um ciclo natural de *T. caninum* na região, já que o animal infectado é nascido na Ilha Grande.

Na maioria das vezes, *T. caninum* foi isolado de cães saudáveis, sugerindo que este parasita pode não ser patogênico em cães (Barros 2012). Ele é constantemente encontrado em reações cruzadas de testes sorológicos em estudos sobre LVC, com outros patógenos para cães, principalmente tripanossomatídeos (Frank *et al.* 2003), estimulando o sistema imune humoral de cães infectados impactando o controle de LV preconizado pelo Ministério da Saúde (Barros 2012). Isto nos leva a refletir ainda mais sobre medidas de manejo que o governo implementa, que inclui a eutanásia de cães soropositivos como forma de controle, este tema controverso que é abordado no Anexo A da tese.

O fato de termos utilizado pele íntegra para a investigação de LVC foi crucial para a detecção do *T. caninum*, visto que não tivemos sucesso no isolamento nas amostras de punção de medula, linfonodo e sangue total, corroborando a preferência por sangue periférico previamente observada (Pinto *et al.* 2010, Gomes 2013).

Nosso estudo encontrou na localidade Enseada das Estrelas/ Saco do Céu a presença de LVC em dois animais da pesquisa, bem como características que favorecem a veiculação da doença como peridomicílios cercados de criação de galinhas, patos e gansos, e, somando-se a isso, Carvalho (2013) fez um levantamento flebotômico na Ilha Grande e encontrou potenciais vetores de leishmanioses: *L. intermedia*, *L. migonei*, *L. flaviscutellata* e *L. longipalpis*, este último no intra e peridomicílio da localidade de ocorrência do único caso notificado de LVA na Ilha Grande – Enseada das estrelas/Saco de céu.

Os possíveis fatores de transmissão envolvidos na dinâmica da LVC foram investigados com base em estudos pretéritos. Sabendo que o domicílio e o peridomicílio desempenham importantes papéis na dinâmica de transmissão da LVC, devemos atentar que a pobreza leva a um grande aglomerado populacional, habitações inadequadas e a falta de estruturação sanitária, bem como adensamento e a presença de cães no interior dos domicílios ou em áreas peridomiciliares, pode ser um fator ainda maior para a ocorrência de LV em seres

humanos, favorecendo o aparecimento da doença (Silva *et al.* 2009; Werneck *et al.* 2008; Chappuis *et al.* 2007). A isso soma-se a falta de investimento em saúde e educação.

Com relação ao impacto no ciclo epidemiológico da LV em relação ao papel das aves ainda não há um consenso dos pesquisadores sobre isso. Enquanto alguns autores sugerem que a presença de galinhas nas residências está relacionada a maior proliferação do vetor da LV, pois podem piorar as condições sanitárias locais, devido à produção de resíduos orgânicos, o que favorece a atração e manutenção do vetor no ambiente (Feliciangeli 2004; Lainson & Rangel 2005), outros apontam que estes animais atuam como uma possível barreira zoonótica para a infecção por *L. infantum*, diminuindo a população de flebotômios no interior das residências e elevando a quantidade no interior dos galinheiros (Costa 2011). Nosso trabalho encontrou uma forte correlação ($p=0,001$) entre os cães infectados com LVC e a criação de galinhas no peridomicílio, indo de encontro ao trabalho de Rodrigues *et al.* (1999) onde alertam que os seres humanos que residiam em casas com criação de galinhas no peridomicílio possuíam quatro vezes mais chance de se infectarem do que as pessoas que viviam na mesma área, mas não possuíam estas aves em seus quintais. Borges *et al.* (2009) corroborou esse achado e acresceu de dados matemáticos inferindo que a presença de patos, roedores, pássaros e galinhas próximas aos domicílios aumenta o risco de ocorrência de LV em seres humanos em 4,18; 1,81; 1,57 e 1,47 vezes, respectivamente. Já Julião *et al.* (2007) e Silva *et al.* (2012) não verificaram correlações positivas entre a presença de galinhas e a infecção por *L. infantum* em cães. Ainda de acordo com Borges *et al.* (2009), proprietários com um ou dois cães em suas residências apresentaram, respectivamente, 1,87 e 3,36 vezes mais chances de contraírem a doença, quando comparados a indivíduos que não possuíam animais. Indo além Faye *et al.* (2011) constataram que além da presença dos cães duplicaram o risco da doença em humanos, em casas com animais infectados por LV a chance dos moradores se infectarem é de 5,56 vezes maior do que naquelas habitações com animais saudáveis. Cesse *et al.* (2001) apontou que 67% dos pacientes humanos com LV possuíam animais em casa quando adoeceram, sinalizando que esse pode ser um fator de risco. Em nosso trabalho três proprietários, dos quatro que possuem cães com LVC, possuem mais de um cachorro em sua residência, refletindo um fator de risco de contágio.

Segundo Gálvez e colaboradores (2010), o risco de contágio é três vezes maior para os cães com acesso às ruas em relação aos animais que ficam em casa ou no seu peridomicílio. Nossos resultados não encontraram correlação ($p=0,947$) de que o tipo de confinamento exerça algum fator de risco para a doença, porém Curi (2014) achou que cães de livre circulação são alvos mais difíceis para os vetores, enquanto que os cães que vivem em

espaços restritos passam mais tempo quietos sendo mais facilmente encontrados, mordidos e infectados nesses cenários rurais. Além disso, a associação negativa com a mobilidade do cão em um dos modelos indica que ser mantido perto de uma habitação humana está associado a um aumento do risco de infecção do cão. No entanto, na revisão de Belo (2013) é mencionado que a relação geral é inversa. Talvez a detectabilidade de cães pelos flebotomíneos varie entre cidades e áreas rurais e um ciclo puramente peridoméstico de LVC possa estar acontecendo nesses cenários.

Julião *et al.* (2007) e Barboza *et al.* (2006) verificaram que residir com gatos no mesmo ambiente não constituiu um risco para a ocorrência da doença canina, mas Silva *et al.* (2012) concluíram que a presença de gatos infectados pode estar associada à prevalência da leishmaniose visceral em cães. Segundo os autores, domicílios com felinos apresentaram 58% mais chances de possuírem cães sororreagentes para *L. infantum* do que moradias sem estes animais. Em nosso estudo os gatos domiciliados ficam em sua totalidade com acesso irrestrito as ruas e matas, embora alguns poucos prefiram ficar em casa ou no peridomicílio.

Um fator de risco importante é a proximidade entre os domicílios de animais infectados e não infectados. Um estudo mostra que a ocorrência da LV em indivíduos vivendo em residências a uma distância menor do que 22,8 m de uma casa com um animal parasitado apresentaram 37% de chance de também serem infectados, contra 7,9% se a distância entre as residências for maior do que 22,8 m (Gomes 2014).

Os domicílios dos animais da nossa pesquisa eram, em sua grande maioria, humildes e com aglomerados humanos. Residir em ambientes precários, sem saneamento, sem reboco, sem pisos pode aumentar de duas a quatro vezes a chance de infecção humana pelo parasita (Ranjan *et al.* 2005; Saha *et al.* 2009). Bern e colaboradores (2000) verificaram menor risco de infecção em proprietários com melhor poder aquisitivo, concordando com o estudo de Cesse e colaboradores (2001), que verificaram que as baixas condições financeiras e a estruturação precária dos imóveis favoreceram a infecção por *L. infantum* em seres humanos. Estima-se que a chance de contágio em áreas sem rede de esgoto ou sem coleta de lixo adequada possa ser quatro e seis vezes maior, respectivamente, do que aquela em áreas com estes serviços oferecidos de forma correta (Dhiman & Sean 1991; Costa *et al.* 2005).

A presença de cobertura vegetal (Cerbino-neto *et al.* 2009), ausência de saneamento (Costa *et al.* 2005; Camargo-neves 2007; Bigeli *et al.* 2012) e a coleta de lixo insipiente (Moreno *et al.* 2005; Costa *et al.* 2005; Cerbino-neto *et al.* 2009; Bigeli *et al.* 2012) também podem estar associados à manutenção da infecção por *L. infantum*, pois estes fatores tornam o

ambiente propício ao desenvolvimento de formas imaturas do vetor e a sua manutenção no ambiente (Feliciangeli 2004; Fernández *et al.* 2010).

A maioria dos estudos de LVC retratam um ambiente de zona urbana, porém Curi (2014) relacionou alguns fatores de risco envolvendo a interface animal doméstico/silvestre/humano. Ele encontrou algumas características individuais de cães que foram associadas à soropositividade. A estatura do cachorro foi positivamente associada à soropositividade em todos os modelos testados por ele. Este fator pode estar relacionado a um efeito de tamanho de alvo ou diferenças na irradiação de calor e CO₂ entre cães de pequeno e grande porte, aumentando a preferência de hospedeiros grandes pelos vetores. No nosso trabalho não houve correlação dos casos positivos com o tamanho do animal ($p=0,768$), sendo encontrado desde fox paulistinha a Dálmata. Um dos fatores positivamente associados à soropositividade também por Curi (2014) foi o pêlo longo do cão, se contrapondo a literatura que sinaliza que pêlo curto é considerada como um forte preditor de infecção por leishmaniose canina em cidades brasileiras (Moreira *et al.* 2003; Belo 2013; Coura-Vital 2013). Assim, medidas de controle em zonas rurais não devem visar nenhum fenótipo de cachorro em particular, ao contrário do foco em cães de pêlo curto proposto para populações urbanas (Belo 2013). O peso e o escore corporal foram associados negativamente, podendo-se inferir que os animais com baixa condição corporal podem ter comprometimento da função imunológica e maior susceptibilidade à infecção, mas em nossas análises não se mostrou um fator relacionado a infecção ($p=0,931$).

Curi revelou uma correlação negativa fraca entre a presença de ectoparasitas e o tratamento prévio destes, se traduzindo em ineficácia contra os flebotomíneos. Na nossa região de análise pouquíssimos proprietários tratavam seus animais contra ectoparasitas (20%), mas, segundo Curi (2014) não podemos associar este fato como um fator de risco.

Belo (2013) encontrou em seu estudo que cães com mais de um ano tinham maior probabilidade de serem infectados, mas acima dessa idade não encontrou diferença significativa, assim idade não seria um forte preditor para a infecção por *Leishmania* spp e cães de todas as idades podem ser reservatórios nas áreas de estudo, indo de encontro ao nosso trabalho onde não encontramos correlação ($p=0,502$) entre os animais infectados e a idade dos mesmos.

Quando inserimos nossos resultados nesse cenário de fatores de risco percebemos que nossa área de estudo se encontra em grande confluência de intempéries. Cardoso (2014) encontrou DNA de três espécies de *Leishmania* infectando tanto mamíferos silvestres de UCs quanto cães domésticos do entorno destas. Isto legitima a preocupação de termos um

reservatório tão próximo de áreas que queremos proteger. As regiões de Saco do Céu/Enseada das Estrelas, Araçatiba e Matariz, onde encontramos os animais infectados por LVC, são regiões onde existe a presença de criações de galinhas, bem como a maioria das pessoas possui mais de um animal e ainda vivem em regiões próximas a mata com peridomicílio composto por cobertura vegetal e matéria orgânica de outros animais domésticos. Nesses locais a proximidade dos domicílios também pode ser um fator facilitador de contágio da doença, bem como as condições precárias das moradias.

Cabe ressaltar que temos o ciclo epidemiológico na Ilha Grande, já que três dos quatro animais positivos para LVC nasceram na ilha e, apenas um animal a proprietária desconhecia a sua origem, o que sinaliza a necessidade de fiscalização da entrada e saída desses animais dessa região.

A maioria dos animais amostrados no estudo são criados soltos e possuem acesso a regiões de mata, portanto, a presença de populações de cães-reservatório infectados ao redor de UCs sob forte pressão humana pode justificar a persistência, a circulação e os possíveis, ainda desconhecidos, efeitos deletérios da leishmaniose sobre a saúde e a aptidão física de animais silvestres, bem como seu impacto na saúde pública.

Unidades de Conservação, no território brasileiro, são protegidas por lei federal e deveriam garantir a representatividade das diferentes populações, habitats e ecossistemas. Nossas leis não garantem a efetividade das UCs que é ameaçada por inúmeros agentes. A população da Ilha Grande já vive sob constante carestia de recursos financeiros, educacionais e de saúde. Para que eles encarem o problema da presença de seus animais de estimação para a conservação não basta somente campanhas de conscientização pontuais, é necessário a capacitação de pessoal para a atuação nessa frente, melhoria do diálogo da pesquisa científica com esses moradores e seus representantes dentro da comunidade, retorno do resultado da pesquisa com linguagem acessível as pessoas da região, bem como um diálogo respeitoso com os mesmos. O Estado precisa fornecer vacinas e programas de castração, bem como programas de conscientização da população da importância da posse responsável na esfera da saúde do animal doméstico, da sua família e do ambiente em que vive. O cachorro continuará a ser presença ao lado do homem, como essas relações podem ser benéficas, também cabe a comunidade científica ressignificar para que o equilíbrio seja encontrado. A posse irresponsável dos animais domésticos e a falta de conhecimento da população sobre o impacto desses animais na vida selvagem e na sua própria saúde configuram um grande entrave para a conservação e funcionalidade dessas UCs, com isso não podemos jamais pensar em qualquer tipo de manejo sem incluir o social em nossas pesquisas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Encontramos o primeiro registro de *Trypanosoma caninum* para a região da Ilha Grande;
- Identificamos 4 animais infectados por leishmaniose visceral canina, conforme normas preconizadas pelo Ministério da Saúde;
- As vilas de Saco do Céu, Araçatiba e Matariz foram identificadas com os casos caninos de leishmaniose visceral, sendo Saco do Céu a com maior número de animais infectados;
- Características ambientais observadas no peridomicílio como criação de galinhas se mostrou um forte fator de risco associado a doença na região;
- Sinalizamos um ciclo epidemiológico na região na medida que, três dos quatro, cães infectados com leishmaniose visceral nasceram na Ilha Grande;
- Apontamos a necessidade de investigação da presença de outros tripanossomatídeos na região, visto que já detectamos a presença de outra espécie e esta, bem como as demais não investigadas, podem interferir nos estudos de leishmanioses através de reações cruzadas.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA 21. *Plano de Desenvolvimento Sustentável da Ilha Grande*. Rio de Janeiro: Agência 21, 2008.

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

ALENCAR, R.B.; QUEIROZ R.G. e BARRETT T.V. Breeding sites of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) and efficiency of extraction techniques for immature stages in terra-firme forest in Amazonas State, Brazil. *Acta Tropica*, v. 118, p. 204-208, 2011.

ALHO, C.J.R.; SCHNEIDER, M. e VASCONCELLOS, L.A. Degree of threat to the biological diversity in the Ilha Grande State Park (RJ) and guidelines for conservation. *Brazilian Journal of Biology*, v. 62, n. 3, p. 375-385, 2002.

ALVAR, J. et al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *PLoS One*, v. 7, n. 5, p. 1-12, 2012.

ANDRADE, H.M. et al. Use of pcr-rflp to identify *leishmania* species in naturally-infected dogs. *Veterinary Parasitology*, v.140, p. 231-238, 2006.

ARAÚJO, F.N.A. *Epidemiologia da leishmaniose tegumentar na Ilha Grande, Rio de Janeiro: estudos sobre a infecção humana, reservatórios e transmissores*. Tese de Mestrado, Pós-graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias. Fac. Med. da UFRJ, Rio de Janeiro, 178 p., 1978.

ARIAS, J.R.; MONTEIRO, P.S. e ZICKER, F. The reemergence of visceral leishmaniasis in Brazil. *Emerging Infectious Diseases*, v. 2, n. 2, p. 145-146, 1996.

ASHFORD, R.W. Leishmaniasis reservoir and their significance in control. *Clinics in Dermatology*, v. 14, p. 523-532, 1996.

ASHFORD, R.W. What it takes to be a reservoir host. *Belgian Journal of Zoology*, v.127, p. 85-90, 1997.

ASHFORD, R.W. The leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses. *International Journal for Parasitology*, v. 30, p. 1269-1281, 2000.

BARATA, M.M.L. e CONFALONIERI, U.E.C. 2011. *Mapa de vulnerabilidade da população do Estado do Rio de Janeiro aos impactos das mudanças climáticas nas áreas social, saúde e ambiente*. Disponível em: <http://www.sematur.rj.gov.br/pdf_2010/Relatorio%204%20FIOCRUZ%2040211.pdf>. Acesso em 01 jul 2016.

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

BARROS, J.H.S. et al. Occurrence of *Trypanosoma caninum* in areas overlapping with leishmaniasis in Brazil: what is the real impact of canine leishmaniasis control? *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 106, n. 7, p. 419-423, 2012.

BIGELI, J.G.; OLIVEIRA JR, W.P. e TELES, N.M.M. Diagnosis of *Leishmania (Leishmania) chagasi* infection in dogs and the relationship with environmental and sanitary aspects in the municipality of Palmas, state of Tocantins, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.45, n.1, p.18-23, 2012.

BORGES, B.K.A. et al. Presença de animais associada ao risco de transmissão da leishmaniose visceral em humanos em Belo Horizonte, Minas Gerais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 61, n. 5, p.1035-1043, 2009.

BOUCHEKOUA, M. et al. Visceral leishmaniasis after kidney transplantation: Report of a new case and a review of the literature. *Transplantation Reviews*, v. 28, n. 1, p. 32-35, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. *Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral*. 2ª ed. Brasília, 2006.

BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. *Nota Técnica Nº33*. Brasília, 2010.

BRYDEN, S. L. Diagnosis of american visceral leishmaniasis in humans and dogs using the recombinant *Leishmania donovani* A2 antigen. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, v. 43, p. 289-295, 2002.

CABRERA, M.A.A. et al. Canine visceral leishmaniasis in Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro, Brazil: Assessment of risk factors. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 45, n. 2, p. 79-83, 2003.

CALDELLAS, L.J.M. *Investigação sorológica em 40 cães (Canis familiaris) de áreas endêmicas de leishmaniose tegumentar, no município de Angra dos Reis, Rio de Janeiro, no período de maio a junho de 2008*. 2010. Monografia (Especialização em Dermatologia de Cães e Gatos) - Faculdade de Tecnologia SENAC, Centro Politécnico, Rio de Janeiro, 2010.

CALLADO, C.H. et al. *Flora e cobertura vegetal - O Ambiente da Ilha Grande*. Rio de Janeiro: Ed. UERJ, 2009.

CAMARGO-NEVES, V.L.F. A leishmaniose visceral americana no estado de São Paulo: situação atual. *Boletim Epidemiológico Paulista*, v. 4, n. 48, p.12-14, 2007.

CAMPBELL-LENDRUM, D. et al. Domestic and Peridomestic Transmission of American Cutaneous Leishmaniasis: Changing Epidemiological Patterns Present New Control Opportunities. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 96, n. 2, p. 159-62, 2001.

CARDOSO, L. et al. Low seroprevalence of *Leishmania infantum* infection in cats from northern Portugal based on dat and ELISA. *Veterinary Parasitology*, v. 174, n. 1-2, p. 37-42, 2010.

CARREIRA, J.C. et al. Natural infection of *Didelphis aurita* (Mammalia: marsupialia) with *Leishmania infantum* in Brazil. *Parasites & Vectors*, v. 5, p. 111, 2012.

CARVALHO, B.M. *Aspectos da ecologia de potenciais vetores de leishmanioses (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) na Ilha Grande, Angra dos Reis, Rio de Janeiro*. 2011. 155f. Dissertação (Mestrado em Biologia Parasitária) - Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2011.

CERBINO-NETO, J.; WERNECK, G.L. e COSTA, C.H.N. Factors associated with the incidence of urban visceral leishmaniasis: an ecological study in Teresina, Piauí State, Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 25, n. 7, p. 1543- 1551, 2009.

CESSE, E.A.P. et al. Organização do espaço urbano e expansão do Calazar. *Revista Brasileira de Saúde Materno e Infantil*, v. 1, n. 2, p. 167-76, 2001.

CHAPPUIS, F. et al. Visceral leishmaniasis: what are the needs for diagnosis, treatment and control? *Nature Reviews Microbiology*, v. 5, p. 873-882, 2007.

COELHO, W.M. et al. Molecular detection of *Leishmania* sp. in cats (*Felis catus*) from Andradina Municipality, São Paulo State, Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 176, n. 2-3, p. 281-282, 2011.

CORREDOR, A. et al. Epidemiology of visceral leishmaniasis in Colombia. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 40, p. 480–486, 1989.

COSTA, P. L. Comportamento da fauna de flebotomíneos com ênfase em *Lutzomyia longipalpis*, em área endêmica para leishmaniose visceral, município de Passira, agreste de Pernambuco. 2011. 91 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Recife, 2011.

COURA-VITAL W. et al. Risk factors for seroconversion by *Leishmania infantum* in a cohort of dogs from an endemic area of Brazil. *PloS One*, v. 8, p. e71833, 2013.

DAHROUG, M.A. et al. *Leishmania (Leishmania) chagasi* in captive wild felids in Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 104, p. 73–74, 2010.

DANTAS-TORRES, F.; BRITO, M.E.F.; BRANDÃO-FILHO, S.P. Seroepidemiological survey on canine leishmaniasis among dogs from an urban area of Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 140, p. 54–60, 2006.

DEANE, L.M. e DEANE, M.P. Leishmaniose visceral urbana (no cão e no homem) em Sobral, Ceará. *O Hospital*, v. 47, p. 75-87, 1995.

DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Disease*, v. 27, n. 5, p. 305- 318, 2004.

DHIMAN, R. C. e SEN, A. B. Epidemiology of Kala-azar in rural Bihar (India) using village as a component unit of study. *Indian Journal of Medical Research*, v.93, p.155-160, 1991.

DSJEUX, P. The increase in risk factors for the leishmaniasis worldwide. *Transactions of The*

Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, v. 95, p. 239-243, 2001.

DUJARDIN, J.C. Risk factors in the spread of leishmaniasis: towards integrated monitoring? *Trends in Parasitology*, v. 22, n. 1, p. 4-6, 2006.

FAYE, B. et al. Seroprevalence of *Leishmania infantum* in a rural area of Senegal: analysis of risk factors involved in transmission to humans. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 105, n. 6, p. 333-340, 2011.

FELICIANGELI, M. D. Natural breeding places of phlebotomine sandflies. *Medical and Veterinary Entomology*, v. 18, n.1, p. 71-80, 2004.

FERNÁNDEZ, SM.S. et al. *Lutzomyia longipalpis* spatial distribution and association with environmental variables in an urban focus of visceral leishmaniasis, Misiones, Argentina. *Acta Tropica*, v. 114, n. 2, p. 81-87, 2010.

FERRER, L.; JUANOLA, B. e RAMOS, J.A. Chronic colitis due to *Leishmania* infection in two dogs. *Veterinary Pathology*, v. 28, p. 342-343, 1991.

FORATTINI, O.P. et al. Infecções naturais de mamíferos silvestres em área endêmica de leishmaniose tegumentar do Estado de São Paulo. *Revista de Saúde Pública*, v. 6, p. 255-261, 1972.

GÁLVEZ, R. et al. Emerging trends in the seroprevalence of canine leishmaniosis in the Madrid region (central Spain). *Veterinary Parasitology*, v. 169, n. 3-4, p. 327-334, 2010.

HAYDON, D.T. et al. Identifying reservoirs of infection: a conceptual and practical challenge. *Emerging Infectious Diseases*, v. 8, p. 1468-1473, 2002.

HUMBERG, R.M. et al. *Leishmania chagasi* in opossums (*Didelphis albiventris*) in an urban area endemic for visceral leishmaniasis, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 87, n.3, p. 470-472, 2012.

JULIÃO, F. S. et al. Investigação de áreas de risco como metodologia complementar ao controle da leishmaniose visceral canina. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 27, n. 8, p. 319-324, 2007.

KILLICK-KENDRICK, R. The Biology and Control of Phlebotomine Sand Flies. *Clinics in Dermatology*, v. 17, n. 3, p. 279-89, 1999.

LAINSON, R. The American leishmaniasis: some observations on their ecology and epidemiology. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 77, p. 569-596, 1983.

LAINSON, R. The Neotropical *Leishmania* species: a brief historical review of their discovery, ecology and taxonomy. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, v. 1, n. 2, p. 13-32, 2010.

LAINSON, R. et al. Amazonian visceral leishmaniasis—distribution of the vector *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) in relation to the fox *Cerdocyon thous* (linn.) and the efficiency of

this reservoir host as a source of infection. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 85, p. 135–137, 1990.

LAINSON, R. et al. The dermal leishmaniasis of Brazil, with special reference to the eco-epidemiology of the disease in Amazonia. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 89, n. 3, p. 435-443, 1994.

LAINSON, R. e RANGEL, E. F. *Lutzomyia longipalpis* and the eco - epidemiology of american visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil: A review. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 100, n. 8, p. 811-827, 2005.

LAINSON, R., SHAW, J.J. e LINS, Z.C. Leishmaniasis in Brazil. 4. Fox, *Cerdocyon thous* (l) as a reservoir of *Leishmania-donovani* in para-state, Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 63, n. 6, p. 741, 1969.

LOPES, U.G. et al. Schizodeme and zimodeme characterization of *Leishmania* in the investigation of foci visceral and cutaneous leishmaniasis. *Journal of Parasitology*, v. 70, p. 89-98, 1994.

LUPPI, M.M. et al. Visceral leishmaniasis in captive wild canids in Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 155, p. 146–151, 2008.

MADEIRA, M.F. et al. *Leishmania (Viannia) braziliensis* em cães naturalmente infectados. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 36, p. 551-555, 2003.

MADEIRA, M.F. et al. Mixed infection with *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *Leishmania (Leishmania) chagasi* in a naturally infected dog from Rio de Janeiro, Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 100, p. 442- 445, 2006.

MAIA, C. e CAMPINO, L. Can domestic cats be considered reservoir hosts of zoonotic leishmaniasis? *Trends in Parasitology*, v. 27, n. 8, p. 341-344, 2011.

MARCONDES, M. e ROSSI, C. N. Leishmaniose visceral no Brasil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 50, n. 5, p. 341-352, 2014.

MARZOCHI, M.C.A. et al. Leishmaniose visceral-calazar. *Jornal Brasileiro de Medicina*, v. 41, p. 69-84, 1981.

MARZOCHI, M.C.A. et al. Visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro, Brazil: eco-epidemiological aspects and control. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.42, n. 5, p. 570-580, 2009.

MICHEL, G. et al. Importance of worldwide asymptomatic carriers of *leishmania infantum* (l. *Chagasi*) in human. *Acta Tropica*, v. 119, n. 2-3, p. 69-70, 2011.

MOREIRA, J.R. et al. Peridomestic risk factors for canine leishmaniasis in urban dwellings: new findings from a prospective study in Brazil. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 69, n. 4, p. 393–397, 2003.

- MORENO, E. C. et al. Fatores de risco para infecção por *Leishmania chagasi* em uma área urbana do Estado de Minas Gerais. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 38, n. 6, p. 456- 463, 2005.
- PAHO – Pan-American Health Organization. *Doença de Chagas – Guia para vigilância, prevenção, controle e manejo clínico da doença de Chagas aguda transmitida por alimentos*. 2009. Disponível em: <http://bvs.panalimentos.org/local/File/Guia_Doenca_Chagas_2009.pdf>. Acesso em 27 março 2016.
- PARANHOS-SILVA, M. et al. Cohort study on canine emigration and *Leishmania* infection in an endemic area for American visceral leishmaniasis. Implications of the disease control. *Acta Tropica*, v. 69, p. 75-83, 1998.
- POZIO, E. et al. Hunting practices increase the prevalence of *Trichinella* infection in wolves from European Russia. *Journal of Parasitology*, v. 87, p. 1498–1501, 2001.
- QUARESMA, P.F. et al. Wild, synanthropic and domestic hosts of *Leishmania* in an endemic area of cutaneous leishmaniasis in Minas Gerais State, Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 105, p. 579–585, 2011.
- QUINNELL, R.J. e COURTENAY, O., Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis. *Parasitology*, v. 136, p. 1915–1934, 2009.
- RANJAN, A. et al. Risk factors for Indian kalaazar. *American Journal Tropical Medicine Hygiene*, v. 73, n. 1, p. 74- 78, 2005.
- READY, P.D. Leishmaniasis emergence and climate change. *Revue Scientifique et Technique-office International des Epizooties*, v. 27, p. 399-412, 2008.
- ROCHA, F.L. *A rede trófica e o papel dos carnívoros silvestres (ordem carnívora) nos ciclos de transmissão de Trypanosoma cruzi*. 2013. 130f. Tese (Doutorado em Biologia Parasitária) – Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2013.
- RODRIGUES, A. C. et al. Criação peridomiciliar de galináceos aumenta o risco de leishmaniose visceral humana. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 32, p. 12–13, 1999.
- ROLÃO, N. et al. Equine infection with leishmania in Portugal. *Parasite*, v. 12, n. 2, p. 183-186, 2005.
- ROQUE, A.L.R e JANSEN, A.M. Wild and synanthropic reservoirs of *Leishmania* species in the Americas. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, v. 3, p. 251–262, 2014.
- ROSS, R. Further notes on Leishman's bodies. *British Medical Journal*, v. 2, p. 1401, 1903.
- ROUGERON, V. et al. First clinical case of cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania (Viannia) braziliensis* in a domestic cat from French Guiana. *Veterinary Parasitology*, v. 181, n. 2- 4, p. 325-328, 2011.

SAHA, S. et al. Visceral leishmaniasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 103, n. 7, p. 737- 742, 2009.

SALAZAR, H.C. et al. Leishmaniose visceral (Relato de um caso autóctone na cidade do Rio de Janeiro). *Revista Médica*, v. 8, p. 19-20, 1979.

SALGADO, C.M. e VASQUEZ, N.D. Clima. In: BASTOS, M. e CALLADO, C.H. (Org.). *O Ambiente da Ilha Grande*. Rio de Janeiro:Ed. UERJ, 2009. p. 7-20.

SAVANI, E.S. et al. The first record in the Americas of an autochthonous case of *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* in a domestic cat (*Felis catus*) from Cotia County, Sao Paulo State, Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 20, n. 3, p. 229-33, 2004.

SCHUBACH, T.M. et al. American cutaneous leishmaniasis in two cats from Rio de Janeiro, Brazil: first report of natural infection with *Leishmania (Viannia) braziliensis*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 98, n. 3, p. 165-167, 2004.

SHAW, J. How climatic and environmental variations affect the eco-epidemiology of the leishmaniasis and their control. In: III WORKSHOP DE GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR DE INSETOS VETORES DE DOENÇAS TROPICAIS. Recife: 2008. p. 13.

SHAW, J. et al. Os flebotomíneos brasileiros como hospedeiros e vetores de determinadas espécies. In: RANGEL, E.F. e LAINSON, R. (Ed). *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Ed. FIOCRUZ, 2003. p. 337-352.

SHERLOCK, I.A. Ecological interactions of visceral leishmaniasis in the state of Bahia, Brazil. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 91, p. 671–683, 1996.

SHERLOCK, I.A. et al. Natural infection of the opossum *Didelphis albiventris* (Marsupialia, Didelphidae) with *Leishmania donovani*, in Brazil. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 79, p. 511, 1984.

SHIMABUKURO, J.S. Estudo da soroprevalência de *Leptospira* spp. Em capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) na bacia hidrográfica do Alto Tietê, SP. 2006. 50 f. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

SILVA, A.V. et al. The first record of American visceral leishmaniasis in domestic cats from Rio de Janeiro, Brazil. *Acta Tropica*, v. 105, n. 1, p. 92-94, 2008.

SILVA, J.J.P. et al. Clinicopathological and immunohistochemical features of the severe pulmonary form of leptospirosis. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 35, n. 4 p. 395-399, 2002.

SILVA, L.A. et al. Antileishmania immunological tests for asymptomatic subjects living in a visceral leishmaniasis-endemic area in Brazil. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v.84, n. 2, p. 261-266, 2011.

SOUZA, M.A. et al. Leishmaniose visceral no Rio de Janeiro. 1 – Flebotomíneos da área de

procedência de caso humano autóctone. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 76, n. 2, p. 161-168, 1981.

SOUZA, M.B. et al. Fauna Flebotomínica de Área com Ocorrência de caso Autóctone de Leishmaniose Visceral canina na Ilha Grande, Município de Angra dos Reis, Rio de Janeiro. In: XIX CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA, 2005, Porto Alegre.

SOUZA, M.B. et al. Flebotomíneos de áreas com notificações de casos autóctones de leishmaniose visceral canina e leishmaniose tegumentar americana em Angra dos Reis, Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 53, n. 1, p. 147-150, 2009.

SOUZA, M.B. et al. Leishmaniose visceral no Rio de Janeiro- Flebotomíneo de área de procedência de caso Humano autóctone. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 76, p. 161-168, 1981.

TAMURA, K. et al. Mega6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, v. 30, n. 12, p. 2725–2729, 2013.

TRAVI, B.L. et al. *Didelphis marsupialis*, an important reservoir of Trypanosoma (*Schizotrypanum*) *cruzi* and *Leishmania (Leishmania) chagasi* in Colombia. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 50, p. 557–565, 1994.

TRIPLEHORN, C.A. e JOHNSON, N.F. *Borror and DeLong's Introduction to the Study of Insects*. 7 ed. California: Thomson-Brooks/Cole, 2005.

WALSH, J.F.; MOLYNEUX, D.H. e BIRLEY, M.H. Deforestation: effects on vector-borne disease. *Parasitology*, v. 106(Suppl), p. 55-75, 1993.

WERNECK, G.L. Forum: geographic spread and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil - Introduction. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 24, n. 12, p. 2937-2940, 2008.

WHO - World Health Organization. *Human leptospirosis: Guidance for diagnosis, surveillance and control*. Genebra, 2003.

WHO - World Health Organization. *Control of the leishmaniasis: reporting of the expert committee on the control of leishmaniasis*. Genebra, 2010.

YOUNG, D.C. e DUNCAN, N.A. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sandflies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). *Memoirs of the American Entomological Institute*, v. 54, p. 1-881, 1994.

CÃES COMO INDICADORES DA SAÚDE ECOLÓGICA: UMA IMPORTANTE FERRAMENTA PARA CONSERVAÇÃO E SAÚDE PÚBLICA NA ILHA GRANDE, MUNICÍPIO DE ANGRA DOS REIS, RJ

INTRODUÇÃO

Há até pouco tempo, as doenças eram tratadas como assunto marginal no âmbito da Biologia da Conservação (Lyles & Dobson 1993; McCallum & Dobson 1995). Não se via um movimento de unificação da pesquisa no sentido da compreensão dos conceitos que envolviam os efeitos das doenças no contexto conservacionista e da saúde pública. Para se mensurar a importância dessa temática, a União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN) considera as doenças como uma das principais ameaças às espécies nativas (IUCN 2012).

As doenças podem atuar como facilitadoras de processos de extinção, principalmente em casos onde existam populações multi-hospedeiros, que podem carrear infecções para as populações nativas e mantê-las circulando na área, interferindo em seus aspectos demográficos, não só com o aumento da mortalidade, mas com a diminuição do recrutamento (Curi 2006; Whiteman 2007; Curi 2014). O grande desafio para a conservação é identificar a presença desses parasitos, seus ciclos de transmissão e, com isso, implementar medidas preventivas e mitigatórias para frear o avanço de possíveis emergências e reemergências de doenças de importância em saúde pública e conservação.

Doenças podem ser potencialmente devastadoras quando ocorrem em populações pequenas e em ambientes de ilha, onde vários fatores ecológicos e epidemiológicos afetam o contágio e a dissiminação dentro de tais regiões. O entendimento desses fatores pode ajudar a desenvolver medidas de prevenção e controle de futuros surtos (Murray *et al.* 1999).

Atividades antrópicas nas proximidades de UCs podem trazer consigo inúmeras consequências. Entre elas, a introdução de espécies exóticas e seus parasitos, cuja presença nesses locais têm sido colocada, há algum tempo, como fonte de debate (Aguirre *et al.* 1995). Moradias próximas ou até mesmo dentro dessas zonas de preservação se tornaram fatores de aproximação de áreas naturais, proporcionando um maior contato entre as populações humanas e seus animais domésticos e as populações de animais silvestres. Dentro dessa lógica temos agentes infecciosos e parasitários para novos ambientes, novos elos de infecções, bem como, novos nichos ecológicos na cadeia de transmissão das doenças (Correa & Passos 2001; Bengis *et al.* 2002).

As zoonoses que são doenças transmissíveis entre os animais e os seres humanos, se encaixam como um desdobramento dessas interações negativas, aumentando as áreas de ocorrência de certas doenças. A presença de cães domésticos dentro e no entorno dessas áreas protegidas aumenta o risco potencial de transmissão de parasitos, e tem recebido olhares não só da comunidade científica como também de núcleos conservacionistas locais preocupados tanto com a saúde dos moradores quanto com a conservação da fauna nativa (Butler & Bingham 2004; Fiorello *et al.* 2004; Cleaveland *et al.* 2000; Courtenay *et al.* 1994).

Ao abordarmos essa problemática pelo lado sócio-político, existe um alto custo econômico para gestão dessas doenças sobre animais silvestres e seres humanos, sinalizando esforços de conservação da vida selvagem pautados também nas quantias gastas com a sanidade dos animais domésticos e saúde pública (Rocha 2013).

Conhecer as características do hospedeiro e do parasito são importantes para se prever os riscos de doenças infecciosas. De acordo com a IUCN (2006), a maioria das espécies de mamíferos consideradas ameaçadas por parasitas são carnívoros ou artiodáctilos. Estes clados incluem a maioria dos animais domesticados, talvez pela sua ampla distribuição global e elevada densidade populacional para o benefício humano, fatores que aumentam o risco de transmissão entre espécies relacionadas à vida selvagem.

Uma estratégia para se detectar a circulação de parasitos em uma determinada região é utilizar espécies *sentinelas*, isto é, espécies que possam sinalizar a presença de doenças antes que elas se pronunciem na população humana, evitando surtos e servindo de indicador de infecção ambiental (Curi 2014; Bowser 2018). Essa é uma ferramenta de prevenção que pode ser útil em ambientes impactados por animais domésticos, por exemplo. Cães apresentam características ecológicas, fisiológicas e comportamentais que os tornam um bom indicador da saúde ambiental, são competentes para várias doenças comuns a humanos, possuem uma elevada taxa de contato com os animais silvestres, são fáceis de manejar e vivem em altas densidades, configurando um bom aporte de dados dentro do cenário da saúde coletiva (Cleaveland *et al.* 2006; Halliday *et al.* 2007; Young *et al.* 2011).

Uma forma de se estudar a presença de certos parasitos dentro de um cenário suspeito de infecção, ou como medida preventiva, quando se tem elementos do ciclo de transmissão de certas doenças presentes na região, é lançar mão de testes sorológicos associados a espécies sentinelas. Testes sorológicos revelam exposição prévia ao agente etiológico estudado, sendo, por si, uma informação importante e que justifica medidas mitigatórias. A titulação sorológica positiva não se traduz na doença clínica, isto é, animais soropositivos para um determinado parasito não necessariamente desenvolverão os sinais clínicos e a doença propriamente dita

(Kennedy-Stoskopf 2003). Com isso, a avaliação frequente da soroprevalência, utilizando uma espécie sentinela de fácil manejo das principais doenças infecciosas e zoonoses torna-se necessária e importante para o diagnóstico precoce, prevenção e controle dessas enfermidades.

Agentes infecciosos responsáveis pela transmissão da Toxoplasmose, Leptospirose e Bartonellose apresentam fatores de risco de infecção que transitam pelos aspectos da saúde e conservação de animais silvestres, assim como da saúde de animais domésticos e de comunidades humanas (Whiteman 2007, Curi 2005, Morikawa 2015). Somado à complexidade deste conjunto, não podemos negligenciar que algumas áreas protegidas podem se encontrar particularmente sob influência de atividades de alto impacto, como turismo desenfreado, moradias irregulares dentro de UCs, falta de pessoal para gerir a circulação de animais domésticos nessas localidades, entre outros.

Portanto, precisamos mapear os focos naturais das zoonoses, identificando os fatores de risco existentes singularmente para cada ecossistemas, e compreender a circulação de agentes patogênicos entre os animais silvestres/domésticos/humanos. Somado a isso, devemos fomentar a integração dos diversos atores sociais, como médicos veterinários, biólogos, zootecnistas, agrônomos, agentes de saúde, sociólogos, população residente perto de UCs, ONGs, governo, turistas, educadores, todos em comunhão na prática de uma mudança de paradigmas com relação a presença de animais domésticos próximos a áreas que queremos preservar.

9 AS ZOONOSES

9.1 Toxoplasmose

A toxoplasmose é causada pelo *Toxoplasma gondii*, um parasito coccídeo intracelular obrigatório com distribuição mundial, que pode potencialmente infectar todas as espécies de vertebrados (Dubey & Beattie 1988; Garrel 1999). O protozoário apresenta prevalência sorológica alta em aves e mamíferos, incluindo o homem (Pappas; Roussos; Falagas 2009). A frequência da infecção em humanos varia entre 10 e 80%, sendo as maiores porcentagens encontradas na América Latina, destacando-se o Brasil, e em países tropicais da África (Pappas; Roussos; Falagas 2009). Apesar da infecção ser classificada como comum em diversas espécies, a sua forma clínica é raramente encontrada (Dubey & Beattie 1988; Garrel 1999) e os sinais clínicos incluem o comprometimento do sistema ocular, neuromuscular, respiratório, digestório, cardíaco e reprodutor (Sherding 1998).

Alguns grupos taxonômicos, como marsupiais australianos e primatas do Novo Mundo, apresentam extrema sensibilidade à doença, o que pode levar ao óbito desses animais, provavelmente devido à exposição evolucionária reduzida a felinos, transmissores do parasita (Whiteman 2007). Os felinos são os hospedeiros definitivos, capazes de amplificar a infecção através da excreção de oocistos nas fezes. O parasito atua como fonte de infecção na cadeia alimentar na forma encistada no tecido muscular e nervoso (Smith *et al.* 2006; Sedlák & Bártoová 2006).

A transmissão, portanto, pode ocorrer através de três possíveis rotas: a ingestão de material fecal de felinos contaminados com oocistos esporulados, a infecção congênita (transplacentária) e a ingestão de cistos em tecido muscular não cozido (Whiteman 2007).

Um ponto a se ressaltar é a existência de variação, mesmo dentro da mesma espécie, quanto à resistência à doença clínica: ratos adultos não adoecem, mas seus filhotes podem morrer em função do contágio; camundongos de qualquer idade são suscetíveis; cães adultos são resistentes, mas os seus filhotes são suscetíveis (Whiteman 2004). Aparentemente a doença é mais ameaçadora para indivíduos mais jovens, imunologicamente imaturos ou idosos com resposta imune debilitada (Silva 2007; Whiteman 2004).

Em seres humanos, a contaminação ocorre principalmente pelo consumo de cistos teciduais em carnes cruas ou mal cozidas, pelo consumo de água contaminada e alimentos contendo oocistos (Garcia *et al.* 1999; Hill & Dubey 2002). A infecção pode ser assintomática ou causar linfadenopatia cervical ou febre, associadas a mialgia, astenia ou outros sinais

inespecíficos, caracterizando a fase aguda da infecção, podendo evoluir para a morte do hospedeiro ou pode desaparecer, por meio da resposta imune, com redução da parasitemia e eliminação dos parasitos do organismo (Covre 2017). Pode ocorrer, também, de alguns parasitos se multiplicarem lentamente, formando cistos em células do sistema nervoso central (SNC), olhos e nos músculos esquelético e cardíaco, sendo chamada de fase crônica da doença, e pode levar a problemas mais graves, como lesões oculares e neurológicas (Tenter, Heckeroth, Weiss 2000). A Toxoplasmose congênita (transmissão vertical) é a principal forma da doença e ocorre em mulheres não imunes que soroconvertem durante a gestação (Whiteman 2007). O parasito infecta a placenta e, como resultado, o bebê infectado pode apresentar lesões severas como alterações na retina, retardamento mental ou distúrbios psicomotores, sendo uma doença de grande importância, também, na saúde pública humana (Whiteman 2007).

No Brasil, além dos felinos, a soroprevalência em canídeos silvestres tem apresentado altos valores (Gennari *et al.* 2004; Vitaliano *et al.* 2004). Acredita-se que os cães poderiam atuar como um transmissor mecânico do parasita. Lindsay *et al.* (1997) inocularam, por via oral, oocistos esporulados de *T. gondii* em cães e verificaram que estes foram eliminados pelas fezes em um estágio infectante, o que se configuraria, portanto, em uma via de transmissão. Tendo em vista a constante presença de cães em áreas protegidas no Brasil e seu papel dentro do ciclo de transmissão não elucidado, a função do cão na transmissão da doença é um campo ainda carente de investigação, entretanto trabalhos de Covre (2014) e Ullmann *et al.* (2008) apontam o papel deste animal como sentinela na toxoplasmose sendo importante para auxiliar no monitoramento das ações de saúde pública para o controle dessa zoonose.

9.2 Leptospirose

A leptospirose é uma doença bacteriana, zoonótica que afeta os animais domésticos, selvagens e o homem (Corrêa *et al.* 2007). É considerada como a doença zoonótica mais distribuída no mundo, principalmente em países tropicais (Higgins 2004). O gênero *Leptospira* possui em torno de 200 sorovares de importância epidemiológica, reunidos em 30 sorogrupos (Leighton & Kuiken 2001), onde tanto a fauna doméstica quanto silvestre pode ser carreadora cronicamente infectada, principalmente os roedores e pequenos marsupiais (Whiteman 2007). Os animais se contaminam através da pele íntegra em contato prolongado com a água e mucosas, assim como pela ingestão por água e alimentos contaminados (Levett 2001; Corrêa 2007). O contato sexual e social também se veiculam como uma forma de

transmissão, bem como invasão transplacentária e ingestão ou contato com leite ou tecidos infectados (Whiteman 2007). A doença causa principalmente um quadro febril, associado a insuficiência renal e hepática aguda, com sinais clínicos mais observados sendo espasmos musculares, incoordenação, icterícia, hemoglobinúria, febre, perda de peso e vômitos, podendo levar à morte (Horsh 1999; Levett 2001; Sherding 1998). As leptospiras são eliminadas na urina e, assim, podem contaminar solos, alimentos e água (Maroja 1986). São organismos aeróbicos que só sobrevivem em ambientes úmidos (lama ou água com temperatura aproximada de 20 graus Celsius), oferecendo pouca resistência ao calor (Corrêa, Lopes, Maroja 1986). Ocorre no meio urbano, rural e silvestre, de forma epidêmica ou endêmica, variando de acordo com as interações de fatores ambientais e dos diferentes grupos de animais hospedeiros (Vasconcellos 1997). Bovinos, suínos, equinos e cães são as espécies domésticas usualmente infectadas, sendo que estas espécies podem carrear a infecção para os animais silvestres, ocorrendo também o inverso, bem como chegar à esfera de contaminação humana (Greene *et al.* 2006). Apesar dessa infecção ser relativamente comum em mamíferos silvestres, a doença é raramente relatada na fauna silvestre em vida livre (Whiteman 2007). Toda espécie de mamífero é potencialmente um hospedeiro de manutenção ou acidental para um ou mais sorovares (Whiteman 2007).

Sorovares positivos para a doença foram relatados em canídeos, roedores, marsupiais, primatas, felinos e cervídeos (Reilly 1970; Redetzke & McCann 1980; Corrêa *et al.* 2004; Cox *et al.* 2005). A detecção de indivíduos positivos em todas as espécies de carnívoros selvagens amostradas no norte do Pantanal (Jorge 2008) indica que a cadeia epidemiológica da leptospirose é bastante complexa, apresentando altos índices de soropositividade.

O maior impacto nas populações de mamíferos selvagens tem sido os registros de abortamento e perdas reprodutivas (Roth 1972). Na Leptospirose existem hospedeiros considerados como de manutenção, através dos quais se estabelecem relações estáveis entre o hospedeiro e o parasita, e hospedeiros acidentais. Os hospedeiros de manutenção são mais propensos a infecção, mas quase não sofrem com a manifestação clínica da doença (Leighton & Kuiken 2001). Os hospedeiros acidentais são menos suscetíveis à infecção, pois necessitam de uma dose infectante mais alta que os hospedeiros de manutenção ou porque estão ecologicamente separados dos principais ciclos de transmissão da doença, sendo, no entanto, mais suscetíveis à doença clínica (Leighton & Kuiken 2001). O homem se enquadra como um hospedeiro acidental, podendo assim desenvolver a doença de forma branda a severa e fatal, tendo a fauna doméstica e silvestre comumente como fonte de infecção (Leighton & Kuiken 2001).

A fauna silvestre é suscetível a infecções relacionadas a uma ampla variedade de sorovares, atuando, assim como o homem, como hospedeiros acidentais. Animais silvestres são frequentemente reagentes a sorovares comuns em suas áreas nativas, mas animais de diferentes origens ecológicas e cenários epidemiológicos diversos, quando forçados a conviver, podem gerar um novo cenário de disseminação de agentes patógenos, assim como a exposição a diferentes tipos de sorovares (Lilenbaum *et al.* 2004).

No homem, a gravidade da doença varia de acordo com o sorovar envolvido, além das condições sanitárias gerais e estado de saúde do indivíduo (Whiteman 2007). A manifestação da doença pode envolver anemias, nefrites crônicas, mastites, abortamentos, morbidade neonatal, infecções oculares e falhas reprodutivas, e sua intensidade deve variar, similarmente aos outros animais, de acordo com idade, estado imunitário do animal e sorovar envolvido (Corrêa 2007).

Nos animais domésticos, a infecção pode ocorrer de forma direta, através do contato com animais infectados, ou de forma indireta, mediante contato com água e alimentos contaminados (Whiteman 2007). Os animais silvestres contaminados apresentam baixa fertilidade, crias frágeis, abortamentos e problemas oculares (Whiteman 2007). Inquéritos sorológicos têm indicado o envolvimento de didelfídeos e roedores, bem como a participação também de carnívoros como potenciais disseminadores dos diferentes sorovares de *Leptospira*, porém as informações ainda são inconsistentes quando se trata de felinos silvestres (Corrêa 2007; Cunha *et al.* 1999).

Frente a isso, compreende-se a importância do levantamento epidemiológico nos cães para melhor destinar esforços de levantamentos epidemiológicos em silvestres e estratégias de mitigação na região estudada.

9.3 Bartonella

As bartoneloses são doenças infecciosas de distribuição global causadas por bactérias de pequenas dimensões, cocobacilares, Gram negativas, intracelulares obrigatórias da ordem Rhizobiales, família Bartonellaceae, cujo gênero mantém relação filogenética remota com os membros da família Rickettsiaceae (Kordick *et al.* 1997; Breitschwerdt *et al.* 2000). As bartonelas são consideradas agentes infecciosos emergentes (Breitschwerdt *et al.* 1998), e recentemente as bactérias do gênero *Bartonella* sp. são responsáveis por diversas ameaças à saúde humana através de várias zoonoses (Cabral 2013). Entre elas, está a bartonelose, a mais

comum na América do Sul, transmitida pelo flebotomíneo (mesmo inseto vetor da leishmaniose), e a doença da arranhadura do gato, transmitida pelo gato doméstico, que em geral causa lesões na pele, mas que pode ser fatal em pessoas imunodeprimidas, por exemplo (Chomel *et al.* 2006; Cabral 2013). Mais de 33 espécies de *Bartonella* foram identificadas, sendo os membros deste gênero capazes de infectar uma ampla gama de hospedeiros mamíferos, com ao menos 22 espécies adaptadas a roedores (Favacho *et al.* 2015). São capazes de infectar o homem e diversas espécies de animais, sendo os agentes causadores da angiomatose bacilar (*B. henselae* e *B. quintana*), mais descrita em pacientes HIV positivos, da doença da arranhadura do gato (*B. henselae*) e da febre das trincheiras (*B. quintana*), entre outras doenças (Cabral 2013). Outras espécies desse parasito infectam o homem, porém menos frequentemente, tendo sido relatados casos de sepse e endocardite por *B. elizabethae* e *B. vinsoni* (Cabral 2013). Quatro espécies da bactéria *Bartonella* foram relatadas por causar infecção em gatos e cães, e duas destas espécies são consideradas espécies patogênicas e de caráter zoonótico (Lapinet *et al.* 2006).

Várias espécies de *Bartonella* foram encontradas em mamíferos selvagens e domésticos em todo o mundo, retratando a sua ampla distribuição geográfica, alta variedade de reservatórios animais e de vetores artrópodes (Gutiérrez *et al.* 2015; Lamas *et al.* 2008).

Manifestações clínicas, como febres recorrentes, endocardites, septicemias, manifestações neurológicas, psiquiátricas, oftalmológicas, ósseas e hematológicas estão associadas à infecção por esses agentes (Cabral 2013). Muitas bartoneloses humanas têm ectoparasitas sugadores de sangue como vetores: lutzomias, piolhos e carrapatos (Velho 2003).

Kosoy *et al.* (2010) e Chomel *et al.* (2009) apoiam a possibilidade de que espécies adaptadas a roedores de *Bartonella* possam estar associadas a muitas infecções humanas, principalmente em áreas onde os seres humanos estão em contato próximo com esses animais. Outras espécies que parasitam roedores foram associadas a uma variedade de sintomas em humanos, incluindo fadiga, dores musculares, dores nas articulares e complicações graves dos sinais neurológicos (Kosoy *et al.* 2010 e Chomelet *et al.* 2009).

Felinos domésticos e selvagens são considerados o principal reservatório de *B. henselae*, *B. koehlerae* e *B. clarridgeiae* (Kordick *et al.* 1999; Breitschwerdt & Kordick 2000; Lamas *et al.* 2008; Breitschwerdt 2008; Mogollon-Pasapera 2009), sendo ainda apontados como reservatório potencial de *B. quintana* (Breitschwerdt *et al.* 2007). A doença conhecida como “arranhadura do gato” se dá pela transmissão de *B. henselae* através de arranhadura,

mordedura ou contato com a saliva do gato doméstico portador (Cabral 2013). Pulgas da espécie *Ctenocephalides felis* são vetores naturais pois, quando infectadas, eliminam a bactéria na forma viável pelas fezes, que contaminarão as patas e dentes do felino, abrindo uma via de transmissão (Breitschwerdt & Kordick 2000; Zanutto *et al.* 2001; Lappin *et al.* 2006). No entanto, existe uma teia complexa na manutenção desse parasito na natureza, já tendo sido identificada *Bartonella* spp. em carrapatos de vários gêneros, por exemplo (Wikswow *et al.* 2007; Mogollon-Pasapera 2009). A bacteremia em gatos domésticos infectados pode ocorrer por um período variável ou ser intermitente, sendo que gatos portadores podem se apresentar assintomáticos ou com poucos sinais clínicos (Souza *et al.* 2010).

Além dos felinos, cães domésticos e selvagens, incluindo coiotes e raposas, têm sido encontrados infectados com *B. vinsonii*, sendo que alguns outros grupos de *Bartonella* também já foram isoladas em cães domésticos (Cabral 2013). Mais recentemente, *B. henselae*, *B. vinsoniiberkhoffii*, *B. quintana* e *B. bovis* foram isoladas da saliva de cães, sinalizando uma possibilidade de transmissão pela lambedura e mordedura do animal, semelhante ao observado em felinos (Breitschwerdt e Kordick 2000; Yamamoto *et al.* 2002; Chomel *et al.* 2003; Boulouis & Chomel 2006; Gary *et al.* 2006; Chomel *et al.* 2006; Maggi *et al.* 2006; Diniz *et al.* 2007; Breitschwerdt 2008; Mogollon- Pasapera 2009). Apesar das informações apresentadas acima, é preciso ressaltar que o papel dos cães como importante reservatório de *Bartonella* spp. é menos claro do que o dos gatos, já que os cães domésticos parecem ser hospedeiros acidentais, ao menos em regiões não tropicais (Cabral 2013). Como a doença no cão é muito semelhante à doença humana, os cães poderiam, assim, ser considerados excelentes sentinelas para infecções em seres humanos (Breitschwerdt & Kordick 2000; Yamamoto *et al.* 2003; Chomel *et al.* 2003; Boulouis & Chomel 2005; Gary *et al.* 2006; Maggi *et al.* 2006; Diniz *et al.* 2007; Duncan *et al.* 2007; Yabsley *et al.* 2008; Mogollon-Pasapera 2009).

Adotando um comprometimento com a saúde ambiental, podemos interligar às ameaças a conservação das áreas protegidas, a saúde humana, silvestre, bem como a de animais domésticos, nunca esquecendo que nenhum elo pode ficar de fora do manejo.

10 OBJETIVOS

Assim, os objetivos deste capítulo foram:

- a) Identificar elementos de risco à saúde humana e de animais silvestres através da investigação da exposição a agentes infecciosos que também são potenciais ameaças para conservação de Unidades de Conservação;
- b) Análise da circulação desses parasitos de importância para a saúde pública, saúde animal e conservação da vida silvestre visando fornecendo diretrizes para medidas conservacionistas e de saúde coletiva.

11 MATERIAL E MÉTODOS

11.1 Coleta de campo

Para este inquérito sorológico, foram utilizadas 392 amostras de sangue canino para as análises de *Toxoplasma* spp. E *Leptospira* spp e 100 amostras para a análise de *Bartonella* spp. em 10 vilas na Ilha Grande, município de Angra dos Reis – Estado do Rio de Janeiro. Os detalhes do procedimento de coleta sanguínea e área de estudo encontram-se na descrição geral de material e métodos.

11.2 Procedimento laboratorial

As alíquotas de soro para análise de toxoplasmose e leptospirose foram processadas no laboratório de Higiene Veterinária e Saúde Pública da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da UNESP – Botucatu. Já os testes de bartonellose foram processados no laboratório de Rickettsioses da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

Todo o procedimento de coleta sanguínea seguiu os protocolos de biossegurança para uso de animais em pesquisa e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso de Animais (CEUA) do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes (032/18) (Anexo C). As amostragens foram realizadas com o consentimento obtido do chefe do agregado familiar ou outro indivíduo responsável, bem como de conhecimento da associação de moradores local.

11.2.1 Procedimento laboratorial: toxoplasmose

Os soros dos cães foram examinados através da técnica de imunofluorescência indireta – RIFI, essa é uma das técnicas imunológicas recomendadas pelo Ministério da Saúde do Brasil e muito utilizada para o diagnóstico da toxoplasmose.

11.2.1.1 Reação de Imunofluorescencia Indireta (RIFI) para detecção de anticorpos IgG

Anti - *Toxoplasma gondii*:

a) Preparação do antígeno:

O antígeno foi preparado segundo a técnica descrita por Camargo (1964) modificada. Taquizoítos da cepa RH de *T. gondii* foram recolhidos por lavagem da cavidade peritoneal de

camundongos suíços infectados, realizada com PBS pH 7,2. O material foi centrifugado a 2.000 RPM por 20 segundos para retirada de células contaminantes do camundongo. O sobrenadante foi coletado e a ele adicionado formol P.A. até a concentração de 0,5% do volume final. Após homogeneização, o material foi centrifugado a 2.500 RPM por dez minutos. O sobrenadante foi desprezado e o sedimento ressuspense em PBS pH 7,2, homogeneizado e centrifugado (2.500 RPM, dez minutos). Este processo foi repetido duas vezes. A suspensão final de taquizoítos foi distribuída em lâminas marcadas (uma gota por orifício), que após secagem foram estocadas em freezer a - 20°C até a realização dos ensaios sorológicos.

11.2.1.2 Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)

Os soros foram titulados em série de diluições quádruplas a partir de 1:16 em PBS pH 7,2 e uma gota de cada diluição foi adicionada nos respectivos orifícios das lâminas previamente sensibilizadas com o antígeno. As lâminas foram colocadas em câmara úmida e incubadas em estufa a 37°C por 30 minutos. Depois de lavadas com PBS pH 7,2 por três minutos e com água destilada, foram secas e a elas foi adicionado o conjugado anti-IgG de cão marcado com isotiocianato de fluoresceína (FITC, SIGMA) diluído (1:500) em Azul de Evans (1:5.000 em PBS-T80 a 2%), uma gota por orifício. Após incubação em estufa a 37°C por 30 minutos, as lâminas foram novamente lavadas com PBS pH 7,2 por três minutos e com água destilada. Depois de secas, foram preparadas com glicerina tamponada e lamínula.

A leitura foi realizada em microscópio de fluorescência (Olympus IX70-FLA), sendo considerada reação positiva quando houve fluorescência verde-amarelada em torno de todo parasito, e reação negativa quando os parasitos apresentavam coloração vermelha ou verde-amarelada em apenas alguns pontos. Foram considerados positivos os animais que apresentaram título de anticorpos iguais ou maiores que 1:16 (Barbosa *et al.* 2003). Em todos os experimentos foram utilizados controles positivos e negativos, previamente definidos.

11.2.2 Procedimento laboratorial: leptospirose

Os soros dos cães foram examinados através da prova de reação de soroaglutinação microscópica - SAM (Cole *et al.* 1973), que é preconizada pela OMS, utilizando-se como antígenos os sorovares importantes para a espécie estudada. É considerado o “padrão de ouro” para o diagnóstico da leptospirose porque é incomparável a outros testes devido a sua alta

especificidade (sorovar/sorogrupo), de acordo com a OMS (2003). Os anticorpos formados no animal são dirigidos contra o sorovar específico. Entretanto, existem reações cruzadas entre diferentes sorovares e, assim, o cão com infecção passada ou presente pode apresentar título de anticorpos para mais de um sorovar, dificultando a identificação do possível sorovar infectante. Cada amostra de soro é testada contra pelo menos um representante de cada sorogrupo (Hagiwara 2003).

O Serviço de Diagnóstico de Zoonoses (SDZ) mantém 25 sorovares para utilização como antígenos na prova de soro aglutinação microscópica (SAM), de acordo com a tabela 1 abaixo:

Tabela 5 - Sorovares utilizados na soroaglutinação microscópica para o diagnóstico de *Leptospira spp.* em cães domésticos (*Canis lupus familiaris*) de Ilha Grande, Rio de Janeiro.

Amostras de sorovares utilizados na rotina diagnóstica do SDZ					
1A	AUS	<i>australis</i>	13	PAN	<i>panama</i>
1B	BRA	<i>bratislava</i>	14A	POM	<i>pomona</i>
2A	AUT	<i>autumnalis</i>	15	PYR	<i>pyrogenes</i>
2B	BUT	<i>butembo</i>	16A	HAR	<i>hardjo</i>
3	CAS	<i>castellonis</i>	16B	WOL	<i>wolffi</i>
4A	BAT	<i>bataviae</i>	17	SHE	<i>shermani</i>
5	CAN	<i>canicola</i>	18	TAR	<i>tarassovi</i>
6B	WHI	<i>whitcombi</i>	19	AND	<i>andamana</i>
7	CYN	<i>cynopteri</i>	21	PAT	<i>patoc</i>
8A	DJA	<i>djasiman</i>	P	PRA	<i>Prajtino</i>
8B	SEN	<i>sentot</i>	M	Minis	<i>Minis</i>
9	GRY	<i>gryppotyphosa</i>	C	CTG	<i>CTG</i>
10	HEB	<i>hebdomadis</i>	B	Bovis	<i>Bovis</i>
11A	COP	<i>copenhageni</i>	22	GUA	<i>Guaricura</i>
11B	ICT	<i>icterohaemorrhagiae</i>	Nup	NUP	<i>Nupezo 01</i>
12	JAV	<i>javanica</i>			

A técnica de soroaglutinação microscópica em tubos com antígenos vivos e leitura em campo escuro foi realizada segundo recomendações da Organização Mundial de Saúde e Escritório Internacional de Epizootias. Foram utilizadas culturas de cepas-padrão de *Leptospira*, mantidas por repiques semanais em meio líquido de Ellinghausen (EMJH), sendo vinte variantes sorológicas de leptospiros patogênicas e duas de leptospiros saprófitas. A suspensão de *Leptospira* foi então diluída a 1:2 em PBS 0,001 molar de pH 7,2 e examinada em microscopia de campo escuro, com objetiva 10x e ocular 10 a 16x, entre lâmina e lamínula para a verificação de uma concentração satisfatória, estando às espiroquetas

individualizadas e preenchendo todo o campo microscópico. Na triagem, o soro foi diluído 1:50 em PBS e filtrado em membrana de 0,45 µm. Alíquotas de 50 µL foram distribuídas em tubos de uma estante; em outra estante, foram distribuídos 50 µL de PBS, que serviram de controle. Aos tubos, foram acrescentados 50 µL da suspensão antigênica correspondente. Os tubos foram incubados por 2 horas em temperatura entre 25°C e 28°C. Gotas destes tubos foram colocadas em lâmina numa fileira para observação de aglutinação em microscopia em campo escuro.

Os soros que aglutinaram mais de 50% das leptospiros foram submetidos à prova de titulação. A partir da diluição 1:50 utilizada na prova de triagem, foram preparadas mais nove diluições do soro, consecutivos e em duplicatas (títulos de 1:100 a 1:25600). Foram distribuídos 50 µL de cada diluição em respectivos poços de placa de ELISA, além dos poços controle utilizando PBS. Aos poços, foram acrescentados 50 µL do antígeno a cada poço das respectivas fileiras e ao controle. A placa foi incubada por 2 horas em temperatura entre 25°C e 28°C e a leitura realizada. O título foi dado como a recíproca da maior diluição em que houve aglutinação.

11.2.3 Procedimento laboratorial: Bartonella

Os soros dos cães foram examinados para a detecção de anticorpos da classe IgG anti-Bartonella com a realização do teste de imunofluorescência indireta (IFI) comercial, seguindo o ponto de corte estabelecido pelo fabricante Bion® USA e pela literatura, com os valores de corte de titulação igual a 64. Nas lâminas de IFI para *Bartonella henselae* contendo organismos purificados distribuídos nos orifícios, foram adicionados 30µl da amostra diluída a 1:16 com PBS de diluição de soro (pH 7,2 ± 0.2), seguida por diluições subsequentes: 1:32 e 1:64. Após incubação da lâmina em câmara úmida em estufa à temperatura aproximada de 37°C por 30 minutos e da subsequente lavagem com PBS, anticorpo IgG anti-cão conjugado à fluoresceína foi adicionado sobre os orifícios da lâmina, que foi novamente incubada. Após lavagem e aplicação de glicerina (pH 9,7 ± 0.2) para montagem da lamínula, a lâmina foi analisada em microscópio de fluorescência em um aumento de 400x.

11.3 **Análise Estatística**

Nós calculamos as prevalências de cães soropositivos em cada uma das praias amostradas. Nós correlacionamos as prevalências entre as três zoonoses. Os resultados

obtidos pelos testes sorológicos foram avaliados se respondiam de forma significativa ($P=0.05$) ao sexo, tamanho corporal (pequeno, médio e grande), condição corpórea (bom, alopecia, lesões na pele, magro), tipo de confinamento (preso ou solto) e criação ou não de galinhas pelo proprietário e idade (<1, 2-4, 5-8, >9 ,através do teste qui-quadrado (X^2). A titularidade da toxoplasmose foi relacionada através de Análise de Variância ou Mann Whitney (em caso de heterocedasticidade das variâncias) com as mesmas variáveis descritas acima, e com os testes sorológicos de leptospirose e bartonela. Todas as análises foram realizadas no programa Systat 13.

12 RESULTADOS

Detectamos a circulação dos três parasitos-alvo na ilha (Tabela 2). A soroprevalência de *Toxoplasma* spp. variou entre 9 e 41% (n=390), com média de $29,7 \pm 10,9$. *Toxoplasma* spp. foi detectado nas dez vilas amostradas, sendo as vilas de Provetá e Saco do Céu as de maiores prevalências (Fig. 1), os títulos se encontram na tabela 3.

Já nas análises de *Bartonella* spp. encontramos uma soropositividade total de 62% (n = 100) e média de $55,8 \pm 30$, com variação entre 20 e 100%, sendo detectada em todas as vilas amostradas com as menores prevalências nas vilas de Bananal, Praia da Longa e Provetá (Tabela 2).

Para *Leptospira* spp. a prevalência variou entre 0 e 27,3% (n=392), com média de $4,8 \pm 8,5$. Animais soropositivos foram detectados em apenas cinco das dez vilas, sendo os maiores valores observados em duas praias contíguas, Bananal e Matariz. Em relação aos sorovares, encontramos cinco tipos, sendo a mais comum Nupezo 01 (N=7), seguida por Copenhageni (N=5), Pyrogenes (N=2), Pomona (N=2) e Icterohaemorrhagiae (N=2) (Tabela 4).

Tabela 6 - Sorologia realizada em amostras de cães domésticos (*Canis lupus familiaris*) em Ilha Grande, Rio de Janeiro, para detecção da presença de anticorpos anti *Toxoplasma* spp., *Leptospira* spp. e *Bartonella* spp. A prevalência (%) foi estimada pelo número de positivos dividido pelo número de amostrados.

VILAS AMOSTRADAS	SOROLOGIA		
	<i>Toxoplasma</i> spp	<i>Leptospira</i> spp.	<i>Bartonella</i> spp
Abraão	26,3% (42/160)	3,1% (5/160)	80% (32/40)
Dois Rios	38,9% (7/18)	0% (0/18)	60% (3/5)
Saco do Céu	41,5% (27/65)	3,1% (2/65)	60% (9/15)
Provetá	41% (16/39)	0% (0/40)	20% (2/10)
Palmas	28,6% (6/20)	0% (0/21)	75% (3/4)
Araçatiba	29,6% (8/27)	3,7% (1/27)	87,5% (7/8)
Matariz	13,8% (4/29)	10,3% (3/29)	25% (2/8)
Bananal	9,1% (1/11)	27,3% (3/11)	25% (1/4)
Sítio Forte	33,3% (1/3)	0% (0/3)	100% (2/2)
Praia Longa	33,3% (6/18)	0% (0/18)	25% (1/4)
Total	30,3% (118/390)	3,6% (14/392)	62% (62/100)

Tabela 7 - Títulos sorológicos de anticorpos anti -*Toxoplasma* spp de amostras de cães domésticos (*Canis lupus familiaris*) em Ilha Grande, Rio de Janeiro, para detecção da presença de anticorpos anti -*Toxoplasma* spp.

Títulos	Total
1:16	65/118
1:64	47/118
1:256	8/118

Tabela 8 - Resultados da Análise de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em cães domésticos (*Canis lupus familiaris*) na Ilha Grande, Estado do Rio de Janeiro, com os respectivos reservatórios dos sorovares (Hagiwara 2004).

Nº do Animal	Localidade	Sorovar encontrado	Título	Reservatório
133	Abraão	Nupezoz 01	1:100	Cachorro doméstico
135	Abraão	Nupezoz 01	1:100	Cachorro doméstico
140	Abraão	Nupezoz 01	1:100	Cachorro doméstico
142	Abraão	Nupezoz 01	1:100	Cachorro doméstico
151	Abraão	Copenhageni + Nupezoz 01	1:100/1:400	Rato – <i>Rattus norvegicus</i>
188	Saco do Céu	Pyrogenes	1:100	Rato- <i>Rattus norvegicus</i>
189	Saco do Céu	Copenhageni + Pyrogenes	1:200/1:100	Rato - <i>Rattus norvegicus</i>
345	Araçatiba	Pomona	1:200	Suínos, bovinos, gambás
360	Matariz	Icterohaemorrhagiae	1:200	Rato – <i>Rattus rattus</i>
364	Matariz	Copenhageni	1:800	Rato - <i>Rattus norvegicus</i>
389	Matariz	Copenhageni + Icterohaemorrhagiae	1:100/1:100	Rato - <i>Rattus norvegicus/ Rattus rattus</i>
372	Bananal	Nupezoz 01 + Pomona	1:100/1:200	suínos,bovinos e gambás
380	Bananal	Copenhageni	1:100	Rato - <i>Rattus norvegicus</i>
381	Bananal	Nupezoz 01	1:100	Cachorro doméstico

*A saber, Nupezoz 01 é o sorovar Canicola que foi isolado no laboratório da UNESP - Botucatu

A correlação entre as prevalências de cães soropositivos nas três zoonoses, em cada praia da Ilha Grande, mostrou uma correlação negativa e significativa entre *Toxoplasma* spp.e *Leptospira* spp. (Pearson=-0,826, p=0,01), ou seja, praias com maior frequência de positivos para *Toxoplasma* spp. eram menos frequentes para *Leptospira* spp., e vice-versa (Figura 1). Não houve correlação entre *Toxoplasma* spp e *Bartonella* spp. (p=0.999) e entre *Leptospira* spp. e *Bartonella* spp.(p=0.710).

O resultado da relação da titularidade de *Toxoplasma* spp., com *Leptospira* spp. corroborou o resultado acima, onde maiores titulações estavam associadas principalmente a cães não reagentes a *Leptospira* spp. (U=1849, p<0.001). Ao contrário da falta de correlação encontrada entre *Toxoplasma* spp. E *Bartonella* spp, a titularidade de toxoplasmose independente da praia relacionou-se significativamente com a *Bartonella* spp (F=5.015; p=0.026). Maiores titulações estavam associadas principalmente a cães não reagentes a

Bartonella spp.

A relação entre as zoonoses com os parâmetros analisados dos cachorros só foi significativa para a relação entre a *Toxoplasma* spp e o tamanho do corpo do animal (Tabela 5). A titularidade da *Toxoplasma* spp também se relacionou com esta característica (U=8.820, p=0.012) (Figura 1).

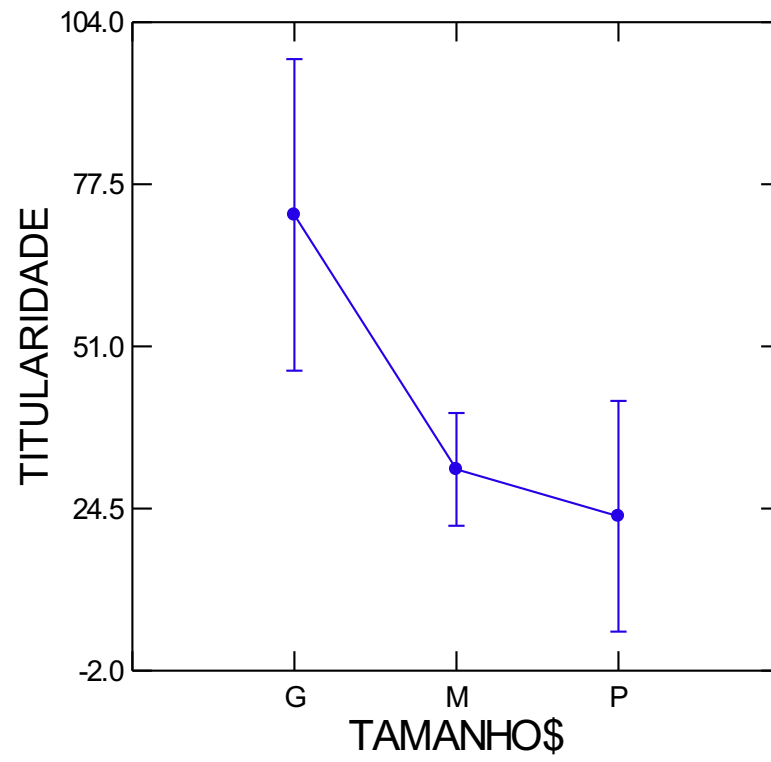
Tabela 9 - Efeito do sexo, tamanho corporal (pequeno, médio e grande), condição corpórea (bom, alopecia, lesões na pele, magro), tipo de confinamento (preso ou solto) e criação ou não de galinhas e idade (<1, 2-4, 5-8, >9 anos) na soropositividade das três zoonoses na Ilha Grande, Estado do Rio de Janeiro. X² refere-se ao valor do teste qui-quadrado e P, o nível de significância do teste. A célula marcada indica valor significativo.

	<i>Leptospira</i> spp.	<i>Toxoplasma</i> spp.	<i>Bartonella</i> spp.
Sexo	X ² =1.239 P=0.266	X ² =0.296 P=0.604	X ² =0.219 P=0.640
Tamanho do corpo	X ² =1.656 P=0.437	X ² =6.684 P=0.035	X ² =2.380 P=0.304
Condição corpórea	X ² =1.247 P=0.742	X ² =3.477 P=0.324	X ² =5.305 P=0.151
Confinamento do animal	X ² =0.040 P=0.842	X ² =0.099 P=0.753	X ² =0.054 P=0.816
Criação de galinhas	X ² =2.121 P=0.145	X ² =0.704 P=0.401	X ² =0.031 P=0.859
Idade	X ² =5.185 P=0.159	X ² =6.645 P=0.084	X ² =6.257 P=0.100

Figura 10 - Mapa da Ilha Grande mostrando a distribuição espacial de *Toxoplasma* spp., *Leptospira* spp. (círculos superiores da esquerda para direita, respectivamente) e *Bartonella* spp. (círculo inferior) em cães domésticos (*Canis lupus familiaris*) nas diferentes praias amostradas. A intensidade da cor do círculo vermelho indica a porcentagem de soropositividade de cada zoonose.



Figura 11 - Relação entre a titularidade de *Toxoplasma* spp com o tamanho do corpo dos cachorros. Legenda: G=grande, M=médio e P=pequeno.



13 DISCUSSÃO

A investigação sorológica realizada com amostras de cães domésticos nas dez vilas revelaram que as três parasitoses circulam em Ilha Grande, sendo *Toxoplasma* e *Bartonella* com alta prevalência e distribuídas em toda a ilha e *Leptospira* spp., menos prevalente e distribuída em cinco das dez vilas. Esse foi o primeiro inquérito dessas parasitoses na Ilha Grande.

Em relação à *Leptospira*, encontramos os grupos sorológicos Copenhageni, Nupezo 01, Pyrogenes, Pomona e Icterohaemorrhagiae. No Brasil, os principais agentes causais da leptospirose canina são o sorovar Icterohaemorrhagiae e o sorovar canicola. O sorovar Copenhageni tem sido cada vez mais frequente no país e se relaciona com infecções tanto em cães quanto em humanos (Hagiwara 2003). Estudos revelam que a ocorrência de infecções na espécie canina pelos sorovares Icterohaemorrhagiae e Copenhageni, cujo hospedeiro natural é a ratazana (*Rattus norvegicus*), pode ser considerada comum (Da Silva 2007; Tesserolli *et al.* 2008), tendo sido encontrados os dois sorotipos em nosso trabalho.

O cão é considerado o hospedeiro natural do sorovar canicola, enquanto que *R. norvegicus* e *R. rattus* são hospedeiros naturais dos sorovares Icterohaemorrhagiae, Copenhageni e Pyrogenes (Morales *et al.* 1978; Coiro *et al.* 2011, Dreer *et al.* 2013). Isso sinaliza que a população local poder estar exposta, com os ratos exercendo um papel de reservatórios iniciais da doença, agindo como fonte de infecção tanto para a fauna doméstica quanto para o homem, direta ou indiretamente. A presença de roedores pode promover a persistência da *Leptospira* nas propriedades. O crescimento urbano desordenado, o turismo sem controle e a grande quantidade de lixo gerado por essa entropia propiciam um ambiente ideal para a proliferação da enfermidade (Figueiredo *et al.* 2001). Foi observada associação significativa entre animais sororreagentes para leptospirose e a variável entulho/lixo (Proença 2009).

Diversos sorovares de leptospira que potencialmente podem infectar os animais domésticos já foram isolados de animais silvestres, roedores e marsupiais (Hagiwara 2003), dentro deles temos presente na área de estudo o Pomona e Pyrogenes. Em Rondônia, um dos sorovares predominantes encontrados foi o Pyrogenes, também identificado em nosso estudo. Este sorovar foi primeiramente isolado de mamíferos silvestres, evidenciando sua importância como reservatório de leptospirosas para cães e seres humanos (Aguiar *et al.* 2007), mostrando uma via de infecção que também passa por reservatórios silvestres.

Pimentel e colaboradores (2009) encontraram positividade para o sorovar Copenhageni nos primatas macaco-prego e macaco-prego-peito-amarelo em um zoológico do Sergipe, indicando que este soroativo pode ser um fator de ameaça dentro da região estudada, especialmente porque na Ilha Grande macacos-pregos (*Sapajus nigritus*) ocorrem naturalmente.

Dentre os sorovares da espécie *Leptospira interrogans*, no Brasil, o sorovar Icterohaemorrhagiae parece ser o mais comum em humanos (Blazius *et al.* 2005). Morales e colaboradores (1978), em estudo realizado na Colômbia, demonstraram que locais com alta taxa de infestação de ratazanas implicava na manutenção do sorovar Icterohaemorrhagiae. Esse sorotipo foi identificado como agente causal em mais de 50% dos casos em humanos descritos em Recife, Salvador e São Paulo (Silva *et al.* 2003). No cão, esse sorovar causa normalmente a síndrome ictero-hemorrágica grave, de evolução muitas vezes fatal, caracterizada pelo comprometimento hepático e renal, resultando em icterícia e insuficiência renal aguda ou crônica e possível óbito do animal em 48 a 72 horas (Hagiwara 2004).

No Brasil, os inquéritos sorológicos já realizados sobre a leptospirose em cães encontraram resultados variáveis, entre 3 a 30%, e entre os sorovares mais frequentes encontra-se o Hardjo (Homem *et al.* 2000), não detectado em nossas análises. Na população humana, foi encontrada prevalência de 32,8%, onde a segunda variante sorológica mais comum identificada (6%) foi Hardjo (Homem *et al.* 2000). Esses valores mostram a importância do uso dos cães como sentinelas, já que a presença do parasito localmente pode ser detectada através desses animais.

Os resultados indicam a presença do sorovar Pomona na praia de Araçatiba, este sorovar é encontrado, principalmente após período de alta precipitação pluviométrica e inundações, nos cães que habitam regiões onde existem os roedores e mamíferos portadores naturais desses sorovares (Corrêa 2007). Os dois animais que apresentaram soropositividade para este sorovar vieram de fora da Ilha Grande, isto dispara um novo olhar de uma possível introdução de mais um agente que pode se disseminar na região, que antes não existia. Já os demais sorovares encontrados foram todos detectados em animais que nasceram no local, estando o foco de contaminação na própria localidade. É importante ressaltar que a última fábrica de sardinha a ser fechada na Ilha Grande foi em Matariz na década de 1980. Tal ambientes, podem ter atraído muitos ratos para a região.

São considerados, portanto, fatores de risco para a leptospirose a atividade do cão (caçador, pastoreio, guarda, pet), as condições sanitárias do ambiente, a existência de portadores naturais, os períodos de chuva e adicionalmente a entrada massiva e contínua de

cães na ilha vindo de diversas localidades do Brasil e até mesmo de fora do país (comunicação pessoal).

A maioria dos títulos encontrados em nosso levantamento (abaixo de 1:400) apontam a ocorrência de um possível contato dos cães com o parasito estudado, não caracterizando a infecção em si. Cabe ressaltar que em Matariz tivemos uma titulação de 1:800, possivelmente indicando a presença da doença nessa área, que só poderíamos confirmar com uma nova coleta de sangue na localidade. A saber que Matariz era uma das regiões com o maior número de criações de galinha dentre todas as áreas amostradas, o que poderia influenciar na disseminação dos ratos. Em Abraão tivemos uma titulação de 1:400, que é o ponto de corte onde podemos considerar que deixa de ser um título de contato para ser de infecção, mas também precisaríamos de maiores investigações. Abraão concentra o maior número de residências e é a porta de entrada da ilha, onde chegam e saem a maior parte dos turistas e moradores, bem como concentra o maior número de cães.

A soropositividade encontrada para os parasitos testados pode indicar um risco de contato entre os cães domésticos e animais silvestres da Ilha Grande. Este contato pode significar um alto potencial para a transmissão de agentes infecciosos, chegando à esfera da saúde humana.

Com relação a esfera da saúde coletiva, dados do SINAN revelam que em 2018, no estado do Rio de Janeiro, foram registrados 219 casos de leptospirose com 32 óbitos. Já para a região de Angra dos Reis tivemos apenas 1 caso confirmado da doença que não evoluiu a óbito.

As medidas preventivas gerais incluem higiene pessoal e do peri-domicílio, drenagem de áreas alagadas, controle de roedores, acondicionamento correto e proteção de alimentos ao contato com possíveis fontes de infecção, controle da infecção em animais domésticos, restrição de contato com ambientes que possam estar contaminados e antibioticoterapia em grupos ocupacionais de alto risco(Corrêa 2007).

Essas orientações de saúde e higiene podem ser passadas à população tanto pelos agentes de saúde quanto pela equipe de pesquisadores e órgãos locais como o INEA. É necessário lembrar, no entanto, que a atuação das equipes de pesquisa é limitada por seu caráter de presença temporária na área de estudo. Assim, uma atuação prolongada e efetiva se faz necessária, principalmente em áreas de UCs, podendo abranger capacitação de professores para a disseminação dessas informações nas escolas, tendo as crianças e adolescentes como porta voz dessa contingência.

A vacinação dos cães domésticos seria a medida preventiva ideal, no entanto, há que se considerar a viabilidade econômica desta medida, dada a precária condição sócio-econômica da população local, ficando nas mãos do poder público gerir essa estratégia de saúde pública e ambiental. A identificação dos sorovares presentes em diferentes regiões é importante para que, no caso de surtos da doença, sejam realizados testes diagnósticos utilizando sorovares presentes na localidade e evitando assim a ocorrência de falsos negativos para a realização do controle e prevenção adequada da doença utilizando vacinas que contenham os sorotipos presentes no local. Por outro lado, o aumento de antígenos predispõe ao aparecimento de maior número de reações de hipersensibilidade. Assim, recomenda-se que as vacinas caninas contra a leptospirose contenham apenas os antígenos que promovam proteção para os sorovares prevalentes naquela região.

Nossos resultados mostram que *Toxoplasma* spp. está presente em todas as áreas amostradas, com maiores taxas nas vilas de Saco do Céu (41,5%) e Provetá (41%). Tais dados sugerem a alta contaminação ambiental das vilas amostradas para este parasito. Entretanto, Saco do Céu não se caracteriza por ser uma vila adensada na Ilha Grande.

Com relação as características individuais destes animais correlacionamos sexo, tamanho corporal, condição corpórea, se o animal ficava preso ou tem acesso a rua e se no peridomicílio tem criação de galinhas. Encontramos correlação positiva ($P=0.035$) somente relacionando o tamanho corporal e *Toxoplasma* spp., onde cachorros maiores apresentaram mais resultados positivos do que o esperado em relação a cachorros menores, talvez explicado pela possibilidade desses animais caçarem em maior frequência que cães menores, aumentando sua taxa de contaminação.

Vários trabalhos têm demonstrado a exposição natural de *Toxoplasma gondii* em animais selvagens. Smith e Frenkel (1995), em estudo de prevalência desse parasita em mamíferos selvagens no Kansas, EUA, evidenciaram a prevalência de 66% (38/58) em carnívoros, 15% (14/94) em onívoros, 11% (13/117) em herbívoros e nula (0/4) em insetívoros, demonstrando que a infecção por *T. gondii* em animais de vida livre, em geral, é maior em carnívoros. A ocorrência do parasito no Brasil tem sido encontrada em carnívoros selvagens com altos valores de soropositividade, Gennari e colaboradores (2004) e Vitaliano e colaboradores (2004), propuseram que a probabilidade de um carnívoro infectar-se com o parasita é maior do que em herbívoros, fato atribuído aos carnívoros ingerirem os cistos teciduais (bradizoítas) de *T. gondii* presentes no tecido nervoso e muscular de suas presas, enquanto os herbívoros teriam que ingerir oocistos provenientes do solo ou água contaminados, o que configura uma via de transmissão mais rara. Os onívoros demonstraram

resultados intermediários entre carnívoros e herbívoros, já que parte da sua alimentação provém de plantas e outra, de presas potencialmente infectadas.

Se tratando de *Toxoplasma*, as UCs com influência direta de moradias em seu entorno sofrem com a contaminação por *T. gondii*, devido aos gatos domésticos e alimento contaminado.

Por conseguinte, a implicação também se dá no caso de felinos domésticos predarem pequenos mamíferos (roedores, por exemplo) infectados com cistos teciduais, levando à possível infecção pelo *T. gondii* até a população, já que serão capazes de dispersar oocistos em suas fezes. A presença de gatos domésticos é uma explicação plausível para explicar a alta prevalência de *Toxoplasma* observada em cães no Saco do Céu.

Outra preocupação relevante é a caça de animais selvagens no local, pois além do impacto direto para as diretrizes de conservação, os mamíferos podem estar infectados com o parasito e, com isso, desenvolver cistos teciduais no tecido nervoso e/ou muscular. Mediante ingestão de carne crua ou mal cozida, a toxoplasmose pode ser transmitida aos seres humanos (Curi 2008; Covre 2014; Whiteman 2007).

A viabilização de trânsito de animais entre áreas de UCs implica potencialmente na transmissão dos patógenos entre populações. Inquéritos sorológicos na população humana e nos animais domésticos devem ser realizados antes e após a implementação de estratégias de manejo, a fim de evitar a disseminação de doenças. Trata-se de uma zoonose de interesse na saúde pública, perigosa para indivíduos imunossuprimidos e mulheres grávidas, cuja transmissão vertical (transplacentária) pode ocorrer (Darcy e Zenner 1993).

O declínio indireto está intimamente ligado aos sintomas reprodutores, que compreendem abortos, nascimento de fetos natimortos, ou fetos fracos que virão a óbito precocemente, bem como a esterilidade nos machos, sendo desdobramentos muito semelhantes tanto em humanos quanto em canídeos (Sherding 1998).

Levando em consideração o tamanho restrito das populações em ilhas e as pressões negativas que sofrem, como a caça, turismo e a baixa variabilidade genética, a diminuição na taxa reprodutiva pode acelerar a extinção local dessas populações em curto ou médio prazo.

O último parasito analisado foi *Bartonella*, sendo esta encontrada em todas as vilas amostradas – em algumas delas, com alta soropositividade. De um total de 100 amostras analisadas, obtivemos 100% (2/2) de soropositividade em Sítio Forte, 87,5% (7/8) em Araçatiba e 80% (32/40) em Abraão. Cabe ressaltar que essa zoonose tem sido reconhecida como doença notificável no Brasil (Ministério da Saúde 2014).

Esse conjunto de doenças pode ocasionar casos graves com complicações cardiovasculares e neurológicas, porém são pouco conhecidas pelos médicos, em especial no Brasil, e, portanto, de difícil diagnóstico, sendo muito subnotificada.

Estudos da história natural da espécie *Bartonella* apontam que estas bactérias se adaptaram a reservatórios mamíferos, desencadeando uma bacteremia em até 50% da população dos seus anfitriões (Bass *et al.* 1997; Brouqui *et al.* 1999). Os vetores e reservatórios de patógenos são difundidos no ambiente, e o modo de vida das pessoas favorece contato direto com eles (Azevedo *et al.* 2000).

Os mamíferos, quando infectados pelas espécies da *Bartonella*, representam um grande reservatório para infecção humana porque a maioria dessas espécies são classificadas como zoonoses. Gatos são os reservatórios principais para a *Bartonella henselae*, *B. clarridgeiae* e *B. koehlerae* (Correa 2008). Um estudo realizado em gatos no município de Vassouras, Estado do Rio de Janeiro, apresentou uma soropositividade de 97,3% (Souza 2010), indicando que esse grupo de doenças merece um estudo mais detalhado e uma ampla divulgação.

O papel dos cães como reservatório da espécie da *Bartonella* é importante, mas é menos evidente do que o dos gatos porque cães domésticos são considerados anfitriões acidentais (Correa 2008; Greene 1987), apesar de termos encontrado alta soropositividade na ilha, o que gera um indicativo de mais investigações, mas atuam como organismos sentinelas para a infecção humana. Carrapatos e picadas de moscas foram enquadrados dentro deste ciclo emergente (Breitschwerdt *et al.* 2001; Chomel *et al.* 2006). Just *et al.* (2008) coletaram 952 pulgas de 148 gatos e 133 cachorros de 18 localizações geográficas amplamente distribuídas na Alemanha e França e, através de PCR encontraram 6 espécies de *Bartonella* diferentes nestes ectoparasitas. Os carrapatos são tanto reservatórios como vetores da doença, e apenas algumas espécies de pequenos mamíferos desenvolvem a patologia durante a infecção aguda (Corrêa 2009). Mamíferos maiores, como cães e homens, desenvolvem a forma clínica da doença, porém a baixa quantidade do agente no sangue destes animais inviabiliza a transmissão a novos carrapatos, impossibilitando-os de se tornarem reservatórios (Corrêa 2009). A doença humana é adquirida após contato prolongado com os carrapatos, a menos que estes tenham sugado um outro hospedeiro, estando aptos a induzir a infecção (Corrêa 2009). O certo é que os carrapatos são fundamentais para a transmissão da doença em condições naturais. Corrêa (2009) analisou DNA extraído de 21 ectoparasitas (*Rhipicephalus sanguineus*) e surpreendentemente foi observado que 13 (61,9%) apresentavam amplificação positiva para *Bartonella* nestes parasitas. Ressalta-se que a presença da bactéria *Bartonella*

vinsonii subespécie *berkhoffii* no sangue de cães pode estar associado com o desenvolvimento de problemas cardíacos nestes animais (Breitschwerdt *et al.* 1999).

Corrêa (2009) sinaliza que a infecção assintomática por bartonellas é bastante frequente, onde, estatisticamente, 60% dos habitantes de uma região endêmica para a doença eram soropositivos para *B. bacilliformis*, porém assintomáticos. Nossos resultados sinalizaram uma alta soropositividade da doença, porém sem sintomas clínicos aparentes, o que pode nos direcionar para um quadro de endemia na área estudada.

Siciliano e colaboradores (2006) relataram nos seus estudos investigatórios realizados no Instituto do Coração (INCOR-Brasil) o envolvimento de maneira significativa de bartoneloses ligadas a endocardite infecciosa, sugerindo que a infecção no Brasil deve ser investigada e considerada como agente causador de endocardite humana.

Favacho e colaboradores (2015) encontraram uma alta prevalência de Bartonella (42,9%) em espécies de roedores silvestres no Mato Grosso do Sul, apoiando a possibilidade de que espécies adaptadas a roedores de Bartonella possam estar associadas a muito mais infecções humanas, principalmente em áreas onde os seres humanos estão em contato próximo com roedores (Kosoy *et al.* 2010; Chomem *et al.* 2009). Entre as espécies de Bartonella associadas a roedores, *B. elizabethae* é uma causa conhecida de endocardite humana (Kosoy *et al.* 2010; Chomem *et al.* 2009).

Globalmente, os roedores são importantes reservatórios para um número crescente de agentes infecciosos emergentes bacterianos e virais, com impactos significativos na saúde pública, porém a maioria das espécies nativas de roedores silvestres ainda não está associada a doenças causadas por Bartonella spp (Grossmann 2015; Lamas *et al.* 2008). Frente a isso, nossos resultados apontam a necessidade de investigação de casos silvestres e humanos para melhor desenho da doença na região, onde novos estudos são claramente necessários para elucidar o potencial papel das espécies de Bartonella associadas a roedores silvestres na doença humana, assim como a presença desses mamíferos na eco-epidemiologia da bartonelose no Brasil.

Uma das principais medidas de controle seria a prevenção de infestações de carrapatos e pulgas em animais domésticos e em ambientes domiciliares. Os cães e gatos podem ser infectados em contato direto com o ectoparasita e, posteriormente, podem transmitir a espécie da bactéria Bartonella a novos hospedeiros, incluindo os humanos.

Repelentes a carrapatos e pulgas deveriam ser aplicados nos animais quando expostos a ambientes de alto risco não só para prevenir a infecção pela bartonela, mas também outras infecções transmitidas por estes ectoparasitas.

Considerando-se que as áreas amostradas encontram-se dentro de Unidades de Conservação e, por si, deveriam ser destinadas a garantir a proteção da biodiversidade, com a exclusão da fauna doméstica e demais atividades antrópicas que vetorizam impactos sobre a vida silvestre, nossos resultados conduzem a um sinal de alerta para a conservação e saúde pública.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Encontramos soroprevalência positiva em cães para os parasitos de *Toxoplasma* spp., *Leptospira* spp. e *Bartonella* spp. na região da Ilha Grande;
- *Bartonella* spp. foi identificada em todas as vilas amostradas e, em algumas, com altas prevalências, o que requer mais estudos na área;
- *Toxoplasma* spp. também foi identificada em todas as vilas amostradas, sendo que em Abraão, Dois Rios, Saco do Céu, Provetá e Matariz os dados de titulação sinalizam a probabilidade da presença da doença;
- Foram identificados cinco tipos de sorovares diferentes para *Leptospira* spp. nas regiões amostradas: Nupezo 01, Copenhageni, Pyrogenes, Pomona e Icterohaemorrhagiae para *Leptospira* spp.;
- *Leptospira* spp. foi encontrada em cinco vilas amostradas, porém em Matariz a alta titulação do sorovar Copenhageni nos alerta da probabilidade da doença ter se estabelecido na região;
- O sorovar Copenhageni pode ainda ser um fator de ameaça aos macacos-prego da Ilha, sendo encontrado em quatro vilas amostradas: Abraão, Saco do Céu, Matariz e Bananal;
- O sorovar Pomona foi sororeativo em dois animais que não nasceram na Ilha Grande, isto pode refletir uma entrada de novo sorovar na região, onde se reforça a necessidade de adotar medidas de controle de entrada e saída de animais da localidade, pois este sorovar tem potencial para contaminar animais silvestres e, aparentemente, não estava presente na ilha antes da entrada desses dois animais;
- Tudo indica que temos a presença de *Leptospira* spp. em algumas localidades devido a presença de ratazanas, reforçando a necessidade de diálogo com a comunidade local para que a informação seja uma aliada no processo de conservação e saúde;
- O sorovar Pyrogenes foi identificado na localidade de Saco do Céu e pode ser um ator importante para contaminação humana e silvestre;
- O sorovar Icterohaemorrhagiae é relatado como um dos mais comuns em estudos com humanos, ele está presente em Matariz, sendo importante carrear investimentos e investigação no campo da saúde coletiva;
- Matariz foi a vila que apresentou a maior soropositividade para *Leptospira* spp.,

talvez explicado pelo fato de ter o maior número de criação de galinhas dentro de todas as vilas amostradas, o que justificaria a maior presença do rato transmissor;

- Somente dois animais com soropositividade para *Toxoplasma* spp. foram também positivos para *Leptospira* spp.;
- Comprovamos que cães podem ser bons indicadores da saúde ecológica e merecem atenção para melhoria da sua saúde e bem-estar, bem como medidas de manejo mais justas e eficazes.

REFERÊNCIAS

- AGUIRRE, A.A.; STARKEY, E.E. e HANSEN, D. E. Wildlife diseases in national park ecosystems. *Wildlife Society Bulletin*, v.23, n.3, p.415-419, 1995.
- AZEVEDO, Z.M. et al. Cat scratch disease caused by *Bartonella quintana* in an infant: an unusual presentation. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 33, p. 313-317, 2000.
- BASS, J.W.; VINCENT, J.M. e PERSON, D.A. The expanding spectrum of Bartonella infections: Cat-scratch disease. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, v. 16, n. 2, p. 163-79, 1997.
- BENGIS, R.G.; KOCK, R.A. e FISCHER, J. Infectious animal diseases: the wildlife/livestock interface. *Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Épizooties*, v. 21, p. 53-65, 2002.
- BLAZIUS, R. D. et al. Ocorrência de cães errantes soropositivos para *Leptospira* spp. na cidade de Itapema, Santa Catarina, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 21, n. 6, p. 1952-1956, 2005.
- BOWSER, N.H. e ANDERSON, N.E. Dogs (*Canis familiaris*) as Sentinels for Human Infectious Disease and Application to Canadian Populations: A Systematic Review. *Journal of Veterinary Science*, v.5, n. 4, p. 83, 2018.
- BRASIL - Ministério da Saúde. *Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso*. 4 ed. Brasília: Secretaria de Vigilância em Saúde - Departamento de Vigilância Epidemiológica, 2004.
- BREITSCHWERDT, E.B. e KORDICK, D.L. Bartonella infection in animals: carrieship, reservoir potencial, pathogenicity, and zoonotic potencial for human infection. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 13, p. 428- 438, 2000.
- BREITSCHWERDT, E.B. et al. Bartonellosis: an emerging infectious disease of zoonotic importance to animals and human beings. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, v. 20, n. 1, p. 8-30, 2010.
- BROUQUI, P. et al. Survey of the seroprevalence of *Bartonella quintana* in homeless people. *Clinical Infectious Diseases*, v. 23, p. 756, 1996.
- BUTLER, J.R.A.; DU TOIT, J. T. e BINGHAM, J. Free-ranging domestic dogs (*Canis familiaris*) as predators and prey in rural Zimbabwe: threats of competition and disease to large wild carnivores. *Biological Conservation*, v. 115, p. 369-378, 2004.
- CHOMEL, B.B. et al. *Bartonella* spp.in pets and effect on human health. *Emerging Infectious Diseases*, v. 12, p. 389-398, 2006.
- CLEAVELAND, S.; MESLIN, F.X. e BREIMAN, R. Dogs can play useful role as sentinel hosts for disease. *Nature*, v. 440, p. 605, 2006.

CLEAVELAND, S. et al. Serological and demographic evidence for domestic dogs as a source of canine distemper virus infection for Serengeti wildlife. *Veterinary Microbiology*, v. 72, p. 217-227, 2000.

COIRO, C.J. et al. Fatores de risco para leptospirose, leishmaniose, neosporose e toxoplasmose em cães domiciliados e peridomiciliados em Botucatu/SP. *Periódicos Brasileiros em Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 18, n. 3, p. 393-407, 2011.

COLE, J.R.; SULZER, C.R. e PURSELL, A.R. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination test. *Journal of Applied Microbiology*, v. 25, n. 6, p. 976-980, 1973.

CORREIA, F.G. *Detecção por PCR da presença de Alpha-Proteobactérias em cães com cardiopatias*. 2002. 68 f. Dissertação (Mestrado em genética e evolução) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2002.

CORRÊA, S.H.R. Leptospirose. In: CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C.R. e CATÃO-DIAS, J.L. (Org). *Tratado de animais selvagens: Medicina veterinária*. São Paulo: Editora Roca, 2007.p. 736-741.

CORRÊA, S.H.R. e PASSOS, E.C. Wild animal and public health. In: MILLER, F. e CUBAS, Z.S. (Ed). *Biology, medicine, and surgery of South American wild animals*. Iowa: Iowa State University Press/Ames, 2001. p. 493-499.

COURTENAY, O. et al. Epidemiology of canine leishmaniasis: a comparative serological study of dogs and foxes in Amazon Brazil. *Parasitology*, v. 109, p. 273-279, 1994.

COX, T.E.; SMYTHE, L.D. e LEUNG, L.K.P. Flying foxes as carriers of pathogenic *Leptospira* species. *Journal of Wildlife Disease*, v. 41, n.4, p.753- 757, 2005.

CURI, N.H.; MIRANDA, I. e TALAMONI, S.A. Serologic evidence of *Leishmania* infection in free-ranging wild and domestic canids around a Brazilian National Park. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.101, p. 99-101, 2006.

DARCÝ, F. e ZENNER, L. Experimental models of Toxoplasmosis. *Research in Immunology*, v.144, p.16-22, 1993.

DREER, M.K.P. et al. Toxoplasmosis, leptospirosis and brucellosis in stray dogs housed at the shelter in Umuarama municipality, Paraná, Brazil. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, v.19, n. 1, p. 1-5, 2013.

FAVACHO, A.R.M. et al. Zoonotic *Bartonella* species in wild rodents in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Microbes and Infection*, v. 17, n. 11-12, p. 889-892, 2015.

FIGUEIREDO, C.M.D. et al. Leptospirose humana no Município de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil: uma abordagem geográfica. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 34, p. 331-338, 2001.

FIGURELLO, C.V. et al. Seroprevalence of pathogens in domestic carnivores on the border of Madidi National Park, Bolivia. *Animal Conservation*, v. 7, p. 45-54, 2004.

GARCIA, J.L. et al. Soroepidemiologia da toxoplasmose em gatos e cães de propriedades rurais do município de Jaguapitã estado do Paraná. *Ciência Rural*, v. 29, n. 1, p. 99-104, 1999.

GARY, A.T. et al. The low seroprevalence of tick- transmitted agents of disease in dogs from southern Ontario and Quebec. *Canadian Veterinary Journal*, v. 47, n. 12, p. 1194–1200, 2006.

GENNARI, S. M. et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies from wild canids from Brazil. *Veterinary Parasitology*, v.121, p.337-340, 2004.

HAGIWARA, M.K. *Leptospirose canina*. São Paulo: Laboratório Pfizer – Divisão de Saúde Animal, 2003. 6 p. Boletim técnico.

HILL, D. e DUBEY, J.P. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. Clinical microbiology and infection. *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, v.8, n.10, p.634-640, 2002.

HOMEM, V.S.F. Leptospirose bovina em Uruará, PA, município da Amazônia Oriental. *Arquivos Instituto Biológico*,v. 67, n. 1,2000.

HORSH, F. Leptospirose. In: BEER, J. (Ed). *Doenças infecciosas em animais domésticos*. São Paulo: Rocca, 1999. p.305-326.

JORGE, R.S.P. et al. Detection of rabies virus antibodies in Brazilian free- ranging wild carnivores *Journal of Wildlife Disease*, v. 46, p. 1310-1315, 2010.

KENNEDY-STOSKOPF, S. Emerging Viral Infections in Large Cats. In: FOWLER, M. e MILLER, R.E. (Ed). *Zoo and wild animal medicine: current therapy*. 4ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1999. p. 401-410.

KORDICK, D.L. et al. Bartonella clarridgeiae, a newly recognized zoonotic pathogen causing inoculation papules, fever, and lymphadenopathy (Cat Scratch Disease). *Journal of Clinical Microbiology*, v. 35, p. 1813–1818, 1997.

KOSOY, M. et al. Identification of Bartonella infectious in febrile human patients from Thailand and their potential animal reservoirs. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 82, n. 6, p. 1140-1145, 2010.

LAMAS, C. et al. Human bartonellosis: seroepidemiological and clinical aspects with emphasis on data from Brazil - a review. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 103, n. 3, p. 221-235, 2008.

LAPPIN, M.R. et al. Prevalence of Bartonella species, Haemoplasma species, Ehrlichia species, Anaplasma phagocytophilum, and Neorickettsia risticii DNA in the blood of cats and their fleas in the United States. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, v. 8, n. 2, p. 85-90, 2006.

- LEIGHTON, F. e KUIKEN, T. Leptospirosis. In: WILLIAMS, E.S. e BARKER, I.K. *Infectious diseases of wild mammals*. 3. ed. Iowa: Iowa State University Press, 2001, p.498-502.
- LEVETT, P.N. Leptospirosis. *Clinical Microbiology Reviews.*, v. 14, n. 2, p. 296, 2001.
- LILENBAUM, W.; RODRIGUES, F. e BARBOZA, F. Aglutininas antileptospiras em caninos do município amazônico de Oriximiná - Pará, Brasil. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 7, n. 3, p. 133-135, 2000.
- LINDSAY, D.S. et al. Mechanical transmission of *Toxoplasma gondii* oocysts by dogs. *Veterinary Parasitology*, v. 73, n. 1-2, p. 27-33, 1997.
- LINS, Z.C.; LOPES, M.L. e MAROJA, O.M. Bacteriologia: epidemiologia das leptospiroses com particular referência à Amazônia brasileira. In: INSTITUTO EVANDRO CHAGAS. *50 Anos de Contribuição às Ciências Biológicas e à Medicina Tropical*. Belém: Ministério da Saúde - Fundação Serviços de Saúde Pública, 1986. v.2, p.730-764.
- LYLES, A.M. e DOBSON, A.P. Infectious disease and intensive management: population dynamics, threatened hosts, and their parasites. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, v. 24, p. 315–326, 1993.
- MAGGI, R.G. et al. A *Bartonella vinsonii berkhoffii* typing scheme based upon 16S-23S ITS and Pap31 sequences from dog, coyote, gray fox, and human isolates. *Molecular and Cellular Probes*, v. 20, p. 128-134, 2006.
- MCCALLUM, H. e DOBSON, A. Detecting disease and parasite threats to endangered species and ecosystems. *Trends in Ecology & Evolution*, v. 10, p. 190–194, 1995.
- MOGOLLON-PASAPERA, E.; OTVOS, J.R.L. e GIORDANO, A. Bartonella: emerging pathogen or emerging awareness? *International Journal of Infectious Disease*, v. 13, p. 3-8, 2009.
- MORIKAWA, V.M. et al. Seroprevalence and seroincidence of Leptospira infection in dogs during a one-year period in an endemic urban area in Southern Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 48, n. 1, p. 50-55, 2015.
- MURRAY, D. L. et al. Infectious disease and the conservation of free-ranging large carnivores. *Animal Conservation*, v. 2, n. 4, p. 241-254, 1999.
- PAPPAS, G.; ROUSSOS, N. e FALAGAS, M.E. Toxoplasmosis snapshots: global status of Toxoplasma gondii seroprevalence and implications for pregnancy and congenital toxoplasmosis. *International Journal for Parasitology*, v. 39, n. 12, p. 1385-1394, 2009.
- PIMENTEL, J.S. et al. Inquérito sorológico para toxoplasmose e leptospirose em mamíferos selvagens neotropicais do Zoológico de Aracaju, Sergipe. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 29, n. 12, p. 1009- 1014, 2009.
- REDETZKE, K.A. e MACCANN, M.J. Isolation of Leptospira from desert rodents of west Texas. *Journal of Wildlife Disease*, v.16, n.3, p.333-337, 1980.

REILLY, J.R. The susceptibility of five species of wild animals to experimental infection with *Leptospira grippotyphosa*. *Journal of Wildlife Disease*, v.6, p.289-294, 1970.

SEDLÁK, K. e BÁRTOVÁ, E. Seroprevalences of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in zoo animals. *Veterinary Parasitology*, v. 136, p. 223-231, 2006.

SHERDING, R.G. Leptospirose, brucelose e outras doenças infecciosas bacterianas. In: BIRCHARD, S.J. e SHERDING, R.G. (Ed). *Manual Saunders: Clínica de pequenos animais*. São Paulo: Roca, 1998. p.143-147.

SHERDING, R.G. Toxoplasmose, neosporose e outras infecções protozoárias multissistêmicas. In: BIRCHARD, S.J. e SHERDING, R.G. (Ed). *Manual Saunders: Clínica de pequenos animais*. São Paulo: Roca, 1998. p.157-164.

SICILIANO, R.F. et al. UIP de Infective Endocarditis due to *Bartonella spp.* and *Coxiella burnetii*: Experience at a cardiology Hospital in Sao Paulo, Brazil. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1078, p. 215-222, 2006.

SILVA D.A.O. et al. Evaluation of serological tests for the diagnosis of *Neospora caninum* infection in dogs: optimization of cut off titers and inhibition studies of cross-reactivity with *Toxoplasma gondii*. *Veterinary Parasitology*, v. 143, n. 3-4, p. 234-244, 2007.

SMITH, K. F.; SAX, D.F. e LAFFERTY, K. D. Evidence for the role of infectious disease in species extinction and endangerment. *Conservation Biology*, v. 20, n. 5, p. 1349-1357, 2006.

SOUZA, W. *Doenças negligenciadas*. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 2010.

TENTER, A.M.; HECKEROTH, A.R. e WEISS, L.M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *International Journal for Parasitology*, v. 30, n. 12-13, p. 1217-1258, 2000.

TESSEROLLI, G. L. et al. Principais sorovares de leptospirose canina em Curitiba, Paraná. *Pubvet*, v. 2, n. 21, 2008.

ULLMANN, L.S. et al. Ações de vigilância continuada papel do cão como animal sentinela para toxoplasmose. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 17, n. 1, p. 345-347, 2008.

VASCONCELLOS, S. A. et al. Leptospirose bovina. Níveis de ocorrência e sorotipos predominantes em rebanhos dos Estados de Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e Mato Grosso do Sul. Período de janeiro a abril de 1996. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 64, n. 2, p. 7-15, 1997.

VELHO, P.E. et al. What do we (not) know about the human bartonellosis? *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v. 7, n. 1, p. 1-6, 2003.

VITALIANO, S.N. et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in captive maned wolves (*Chrysocyon brachyurus*) from southeastern and midwestern regions of Brazil. *Veterinary Parasitology*, v.122, p. 253-260, 2004.

WIKSWO, M.E. et al. Detection of *Rickettsiarickettsii* and *Bartonella henselae* in *Rhipicephalus sanguineus* ticks from California. *Journal of Medical Entomology*, v. 44, p. 158–162, 2007.

WHITEMAN, C.W. Interface entre carnívoros domésticos e silvestres em área de proteção ambiental na Amazônia brasileira: indicadores e implicações para conservação. *Natureza e Conservação*, v.5, n.2, 2004.

WHITEMAN, C.W. et al. Human and domestic animal populations as a potential threat to wild carnivore conservation in a fragmented landscape from the Eastern Brazilian Amazon. *Biological Conservation*, v. 138, p. 290-296, 2007.

YABSLEY, M.J. et al. Prevalence of Ehrlichia canis, Anaplasma platys, Babesia canis vogeli, Hepatozoon canis, Bartonella vinsonii berkhoffii, and Rickettsia spp. in dogs from Grenada. *Veterinary Parasitology*, v.151, p. 279-285, 2008.

YAMAMOTO, K. et al. Experimental infection of specific pathogen free (SPF) cats with two different strains of *Bartonella henselae* type I: a comparative study. *Veterinary Research*, v. 33, n. 6, p. 669– 684, 2002.

ZANUTTO, M.S. et al. Experimental infection and horizontal transmission of *Bartonella henselae* in domestic cats. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 43, n. 5, p. 257-261, 2001.

ANEXO A - Artigo publicado na Revista Saúde Soc. São Paulo, v.25, n.1, p.247-258, 2016

DOI 10.1590/S0104-12902016146918

O uso de um instrumento de política de saúde

pública controverso: a eutanásia de cães

contaminados por leishmaniose no Brasil

Carlos José Saldanha Machado

Érica Gaspar

Rodrigo Machado Vilani

O uso de um instrumento de política de saúde pública controverso: a eutanásia de cães contaminados por leishmaniose no Brasil

Use of an instrument of controversial public health policy: euthanasia of dogs contaminated by leishmaniasis in Brazil

Carlos José Saldanha Machado

Fundação Oswaldo Cruz. Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Saúde. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Fundação Oswaldo Cruz. Programa de Pós-Graduação em Informação e Comunicação em Saúde Fiocruz. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

E-mail: saldanha@fiocruz.br

Erica Gaspar Silva

Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

E-mail: ericagasparbio@gmail.com

Rodrigo Machado Vilani

Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Universidade Candido Mendes. Programa de Mestrado em Planejamento Regional e Gestão de Cidades. Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil.

E-mail: r_vilani@yahoo.com.br

Resumo

A leishmaniose visceral é uma zoonose transmitida por vetor, de importância mundial, que envolve os cães como reservatórios. A “eliminação dos reservatórios” está prevista expressamente como medida de controle no Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral elaborado pela Secretaria de Vigilância em Saúde, órgão do Ministério da Saúde. Contudo, a eliminação de cães soropositivos no Brasil, usada para controlar a leishmaniose visceral, tem sido pouco efetiva. Este trabalho levanta questionamentos sobre esse instrumento de política nacional de saúde pública com base em evidências científicas atuais e análises do ordenamento jurídico brasileiro, realizadas a partir do princípio da precaução e do reconhecimento dos animais como seres sencientes. Conclui-se pela imediata suspensão e revisão da prática de extermínio animal em um Estado Constitucional de Direito, e a adoção de métodos preventivos e mais eficazes que garantam a saúde pública sem proporcionar elevados custos emocionais aos proprietários de cães e financeiros aos cofres públicos.

Palavras-chave: Saúde Pública; Leishmaniose; Eutanásia Animal; Direito Ambiental.

Correspondência

Avenida Brasil, 4365, sala 206A (ICICT/Pavilhão Haity Moussatché), Manguinhos. Rio de Janeiro, RJ, Brasil. CEP 21040-360.

Abstract

Visceral leishmaniasis is a zoonotic disease transmitted by a vector of global importance, which involves dogs as reservoirs. The “elimination of reservoirs” is specifically determined as a control measure in the Manual de Vigilância e Controle de Leishmaniose Visceral [Manual of Surveillance and Control of Visceral Leishmaniasis] published by the Department of Health Surveillance of the Brazilian Ministry of Health. However, the elimination of seropositive dogs in Brazil, used to control visceral leishmaniasis, has been ineffective. This paper raises questions about this national public health policy instrument based on current scientific evidence and analysis of the Brazilian law, held from the precautionary principle and the recognition of animals as sentient beings. It concludes that an immediate suspension and a review of animal extermination practice in the Brazilian Constitutional Rule of Law is needed and the adoption of preventive and more effective methods to ensure public health without providing either emotional costs to dog owners nor burdening the public budget.

Keywords: Public Health; Leishmaniasis; Animal Euthanasia; Environmental Law.

Introdução

Nas últimas quatro décadas, o desenvolvimento econômico do Brasil concorreu para alterar as interações entre homem, ambiente e processos biológicos (Machado, 2013). O perfil epidemiológico do território nacional (Machado, 2012, 2013) foi redesenhado pelo estabelecimento de um quadro endêmico de leishmaniose (Maia; Campino, 2011; Dujardin, 2005), sobretudo a visceral, uma zoonose transmitida por vetor de importância mundial (Claborn, 2014), que envolve os cães como reservatórios, i.e., espécies animais das quais um parasita depende para sua sobrevivência (Fausto; Beaver; Jung, 1973). A dispersão espaço-temporal dessa e de outras doenças infecto-parasitárias, como a malária, a dengue e a hantavirose, acompanha o rápido crescimento de megacidades com um alto fluxo populacional, o aumento da pobreza, as baixas condições sanitárias, o deslocamento do reservatório doméstico e a adaptação das espécies vetoradas, entre outros fatores de risco (Claborn, 2014). Tais características são propícias à expansão e à adaptação de um patógeno a um novo nicho, em diferentes escalas, desde a local, passando pela regional e nacional, até a global (Machado, 2013).

Uma vez que as zoonoses podem ser definidas como processos em fluxo (Machado, 2013), as mudanças ambientais colocam-se, sem dúvida, entre as mais importantes forças motrizes para a emergência e reemergência dessas doenças (Fausto; Beaver; Jung, 1973; WHO, 2010; Ashford, 1996), que contam ainda com mudanças no uso da terra, mudanças climáticas, condições socioeconômicas e perda de biodiversidade como matrizes impulsionadoras à disseminação espaço-temporal dessas enfermidades, tanto nas populações humanas, com nas animais. Contudo, para além dos aspectos de natureza ecológica, processos de natureza política, jurídica e institucional também operam como forças motrizes de uma dinâmica com características transnacionais (Machado, 2012, 2013, 2014).

A realização de estudos transversais sobre as consequências das mudanças referidas anteriormente para a saúde pública se constitui em um grande desafio cognitivo para o trabalho científico, que é o

de conhecer, analisar, propor e/ou atualizar soluções para as doenças infecto-parasitárias, emergentes e reemergentes, como a leishmaniose, doença não contagiosa que se apresenta com características clínicas e epidemiológicas diversas em cada área geográfica (Claborn, 2014; WHO, 2010). O desafio epistemológico reside na compreensão simultânea da dinâmica ecológica da emergência e reemergência das zoonoses e da ação do Poder Público para enfrentar um processo em fluxo em um território de dimensões continentais. Uma vez que nenhum campo de saber é suficientemente abrangente para compreender a totalidade do objeto de estudo, trata-se aqui de um trabalho de pesquisa que demanda o exercício de uma ciência socioambiental biocêntrica, cuja abordagem se caracteriza pela integração das perspectivas ecológica e epidemiológica das ciências sociais e jurídica (Machado, 2012, 2013, 2014). Essa ciência será aqui praticada por meio do estudo da eliminação, no Brasil, de cães soropositivos para leishmaniose visceral como forma do poder público controlar a doença. A “eliminação dos reservatórios” está prevista expressamente como medida de controle no Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral da Secretaria de Vigilância em Saúde/Ministério da Saúde (Brasil, 2014). Em um momento histórico transnacional de amparo legal dos animais domésticos e silvestres (Machado, C. J. S., 2013) e de intensa produção de conhecimentos científicos (Claborn, 2014), cabe se perguntar se as pesquisas científicas sobre leishmaniose e o ordenamento jurídico de um Estado Democrático de Direito, o brasileiro, autorizam a adoção da prática de extermínio de animais de estimação, como os cães soropositivos, ou se é necessária uma revisão desse instrumento de política pública por causa do elevado custo emocional para os proprietários desses animais e financeiro para os cofres públicos (Claborn, 2014). Se as políticas públicas no Brasil instituem direitos assegurados constitucionalmente (Machado, 2014), ou que se afirmam graças ao reconhecimento por parte da sociedade e/ou pelos poderes públicos enquanto novos direitos das pessoas, comunidades, coisas ou outros bens materiais ou imateriais, como explicar a adoção da eutanásia de cães soropositivos como instrumento de política de saúde pública? Se

a Constituição é o conjunto de regras jurídicas que formam a norma fundamental de uma nação, aquela que ocupa o topo da pirâmide hierárquica do direito posto, vinculando todas as normas infralegais, então qualquer ato que desrespeite essa hierarquia deve ser considerado ilegal?

A fim de responder essas questões e contribuir para o aprimoramento das políticas públicas nacionais de saúde - uma vez que elas existem para resolver problemas que afetam as pessoas em sociedade (Machado, 2012, 2014) - optou-se pela pesquisa documental e análise de dados a partir de uma abordagem pautada em evidências científicas publicadas em artigos científicos, após avaliação e validação pelos pares dos princípios de Direito Ambiental relacionados ao uso de animais na sociedade brasileira. Sendo a leishmaniose uma doença parasitária diversa, com uma variedade de manifestações extensiva às Américas, Ásia, Europa e África, ocorrendo em ambientes que vão do deserto, passando pelas florestas tropicais, ilhas oceânicas e chegando a habitats urbanos, a literatura científica sobre essa doença expressa essa diversidade em vários idiomas, como português, árabe, francês e inglês. Nesse trabalho, o levantamento da literatura científica priorizou as bases PubMed e SciELO, identificando e escolhendo os artigos mais atuais, escritos em inglês e/ou em português, com foco no Brasil e nas relações entre saúde, ambiente e sociedade, e aqueles mais citados por esses artigos, em teses, dissertações e livros que analisam a leishmaniose visceral. O levantamento sobre a regulamentação brasileira da proteção da vida animal e da identificação dos princípios constitucionais que se intercorrelacionam e parametrizam o uso de animais foi feito por meio do acesso ao gigantesco material legislativo produzido no Brasil, reunido na Rede de Informação Jurídica e Legislativa¹ (LexML), coordenada pelo Senado Federal.

Além dessa introdução e da conclusão, o artigo está dividido em três seções. Inicialmente é feita uma análise da ecologia da realidade complexa das leishmanioses na dinâmica da vida em sociedade, procurando sintetizar diversos fatores intervenientes à luz de conhecimentos científicos

¹ <http://www.lexml.gov.br>

cos atuais. Na terceira, os princípios do sistema jurídico-constitucional e a regulamentação do uso de animais são discutidos à luz das perspectivas do antropocentrismo e biocentrismo presentes no ordenamento jurídico brasileiro. Em seguida, as argumentações desenvolvidas anteriormente são aprofundadas por um raciocínio que amplia, inter-relaciona e problematiza diversos fatores intervenientes na configuração do fenômeno analisado. Finalmente, na conclusão são feitas considerações gerais e específicas voltadas para o aprimoramento da política nacional de saúde pública de combate à leishmaniose visceral, que faz uso do instrumento da eutanásia em cães contaminados.

A ecologia da realidade complexa das leishmanioses

Leishmanioses são infecções causadas por protozoários parasitos intracelulares obrigatórios pertencentes à ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae, gênero *Leishmania*. Eles configuram um quadro clínico e epidemiológico vasto, englobando inúmeras espécies de leishmaniose que podem infectar o ser humano, entre outros mamíferos hospedeiros, figurando-se como um importante problema de saúde pública. Particularmente no Brasil, são relatados entre 2000-3000 casos por ano (Quinnell, 2009). Aqui, as leishmanioses estão incluídas no Sistema Nacional de Informação de Doenças de Notificação Compulsória do Ministério da Saúde, com registros de casos em todas as Unidades Federadas, afetando principalmente as populações mais pobres.

A leishmaniose visceral (doravante, LV) ganha cada vez mais destaque por causa da sua frequência de ocorrência e sua capacidade de se espalhar rapidamente, sendo o parasita transmitido a partir de animais aos vetores e depois, a partir deles, para seres humanos (WHO, 2010).

Na maior parte das regiões endêmicas, as leishmanioses apresentam uma distribuição difusa, composta por pequenos focos de transmissão, sendo esta distribuição focal decorrente das condições microecológicas que afetam o vetor, o parasito e o hospedeiro reservatório (Dantas-Torres, 2007). Em

virtude desse panorama, as doenças apresentam características diferentes em cada área de transmissão.

Na atualidade, as leishmanioses ocupam a 9ª posição no ranking das doenças infecciosas prioritárias (WHO, 2012), porém é amplamente negligenciada em consequência da desconsideração do Poder Público de sua complexidade epidemiológica/ecológica e escassez de dados sobre a sua incidência e propagação.

A pobreza aumenta o risco de leishmaniose. Casas com aglomeração de pessoas e sem condições sanitárias adequadas, criação de animais em regime de subsistência no peridomicílio e mata residual favorecem a dispersão do vetor e sua proximidade ao ser humano (WHO, 2012; Dantas-Torres, 2007). Outro fator que interfere na suscetibilidade das populações às leishmanioses é o estado nutricional do indivíduo. É sabido que condições de pobreza associada a dietas deficientes de proteína, ferro, vitamina A e Zinco aumentam a probabilidade de manifestações clínicas (Dsjeux, 2001).

Os parasitos de leishmaniose apresentam uma grande heterogeneidade genética e ecletismo quanto às diferentes ordens de mamíferos que são capazes de infectar. Esse ecletismo resulta em uma epidemiologia complexa e peculiar de cada área de ocorrência de leishmaniose, na qual somente a detecção da infecção por leishmaniose em um mamífero não é suficiente para incriminá-lo como um reservatório (Chagas et al., 1938). Para tanto, é necessário demonstrar que a população de parasitos depende daquele mamífero especificamente para a manutenção de seu ciclo, o que requer extensivos mapeamentos ecológicos. Em geral, a incriminação completa e objetiva de um mamífero não é possível, e as considerações devem ser feitas baseadas em uma série de evidências, como a elevada abundância e grande proporção da biomassa local e a vida longa o suficiente para sobreviver a períodos sem transmissão, suscetibilidade à infecção pelo parasito por um longo período de tempo sem desenvolver doenças agudas e presença de parasitos na circulação periférica, onde estão disponíveis à infecção dos flebotomíneos (WHO, 2010; Ashford, 1996). Entre os mamíferos silvestres e sinantrópicos já encontrados com infecção natural por leishmaniose, podem ser citados os gambás e cuícas (Ordem Marsupia-

lia); tatus, preguiças e tamanduás (Superordem Xenarthra); ratos e pacas (Ordem Rodentia); cães, lobos e raposas (Ordem Carnivora); gatos, onças, suçuaranas e quatis (Ordem Carnivora); macacos (Ordem Primata) e morcegos (Ordem Chiroptera) (WHO, 2010). Quanto aos animais domésticos, a infecção do cão doméstico (*Canis familiaris*) por *L. (L.) infantum chagasi* é bastante descrita na literatura, e sua importância na transmissão urbana da leishmaniose visceral é bem aceita, sendo discutida desde os primeiros estudos sobre a doença no Brasil (WHO, 2012; Ashford, 1996; Deane, 1956; Brandão-Filho et al., 2003). No entanto, apesar de já haver registros de infecção natural de cães por *L. braziliensis* (Aguilar et al., 1989; Madeira et al., 2003), sua importância na cadeia de transmissão da leishmaniose tegumentar americana (doravante LTA) ainda está em discussão. Outros animais domésticos também são alvos de estudos, como os equinos, que já foram apontados como possíveis reservatórios de LTA no peridomicílio (Aguilar et al., 1989) e as galinhas, que são importantes atrativos de flebotomíneos no ambiente peridomiciliar (WHO, 2010; Brasil, 2014). Dentro do padrão clássico de transmissão de LTA, torna-se difícil qualquer tipo de intervenção para controlar a doença, já que o ciclo é mantido em ambiente silvestre (Campbell-Lendrum et al., 2001).

A proximidade dos cães aos humanos e a coexistência da LV sugerem que o cão possa manter e ampliar ciclos instalados no peridomicílio e confirmam o papel do cão doméstico como principal reservatório LV no Brasil (Deane, 1956).

A partir desses estudos, os órgãos sanitários no Brasil aplicam medidas de interrupção do ciclo de transmissão focadas na identificação e eliminação de cães suspeitos. Contudo, dados científicos mostram que, apesar das diretrizes bem definidas do Programa de Controle das Leishmanioses (PCL), centradas no tratamento precoce dos casos humanos e diminuição dos riscos de transmissão a partir da eutanásia do reservatório doméstico infectado e controle químico dos vetores, ocorreu um aumento do impacto da doença na saúde pública nacional, apresentando uma média anual de 3.357 casos humanos e 236 óbitos, atingindo principalmente

populações de baixa renda (Ferreira; Moraes, 2001).

Os princípios do sistema jurídico-constitucional e a regulamentação do uso de animais

No ordenamento jurídico nacional, a tutela dos animais pode estar centrada, por um lado, naqueles considerados silvestres, dotados de função ecológica com o amparo constitucional, ou, com base em uma função econômica, os domésticos, que seguem os preceitos do Código Civil. Prevalece, sob essa ótica, que no direito pátrio apenas os seres humanos são sujeitos de direito, enquanto a fauna restringe-se a objeto de direito. Essa perspectiva civilista denota o acentuado antropocentrismo do ordenamento jurídico brasileiro (Toledo, 2012).

O artigo 225 da Constituição Federal é o núcleo do ordenamento jurídico-ambiental brasileiro. Apesar do texto ter interpretações que destacam a natureza antropocêntrica da tutela constitucional ambiental (Machado, P. A. L., 2013), persiste, também, um claro entendimento do caráter biocêntrico dos comandos constitucionais (Machado, P. A. L., 2013; Silva, 1994). No que interessa a essa discussão, a proteção dada aos animais submetidos à crueldade ilustra o biocentrismo constitucional.

Sustentar uma visão antropocêntrica da tutela ambiental significa, portanto, admitir uma mera relação de causalidade (utilitarista) entre a qualidade do meio ambiente e a vida humana. Mas não é essa a perspectiva do Direito Ambiental, de essência reformadora e modificadora, “que surge para rever e redimensionar conceitos que dispõem sobre a convivência das atividades sociais” (Derani, 2001). Para tanto, os princípios da prevenção e da precaução ocupam papel central em uma mudança no paradigma jurídico, por meio dos quais o Poder Público deve atuar preventivamente e com respaldo científico para proteger a vida em todas as suas formas, conforme objetivo constante da Política Nacional do Meio Ambiente (Lei nº 6.938/81).

Em diversos países, como Áustria, Alemanha, Suíça e Estados Unidos, essa nova dogmática jurí-

dica alçou os animais a sujeitos de direito em uma nova categoria de personagens jurídicos (Toledo, 2012; Dias, 2006). A interpretação dos dispositivos constitucionais e da legislação ambiental federal, como a Lei 9.605/98, que trata de crimes e sanções administrativas ambientais, conduzirá à conclusão apontada por Dias (2006) de equivalência entre os direitos da pessoa humana e dos animais, particularmente na proteção do direito à vida, ao livre desenvolvimento de sua espécie, da integridade de seu organismo e de seu corpo. O combate às diversas práticas que contribuem para o sofrimento dos animais tem vasto amparo na jurisprudência do Supremo Tribunal Federal contra brigas de galo (rinhas) e a farra do boi, afastando destas a natureza de manifestação cultural (Brasil, 1997, 2007). Os dispositivos legais, os princípios de Direito Ambiental e a jurisprudência analisada, em conjunto, criam uma atmosfera jurídica condizente com a existência de direitos por parte dos animais.

Esse entendimento, atualmente, está em discussão para se tornar expressamente aceito no ordenamento pátrio, conforme se pode observar nos objetivos de dois Projetos de Lei em trâmite na Câmara dos Deputados. O Projeto de Lei nº 7.991/2014, que propõe alteração do Código Civil, visa à definição de uma personalidade jurídica *sui generis* para os animais, tornando-os “sujeitos de direitos fundamentais”. O referido projeto encontra-se apensado ao Projeto de Lei nº 6.799/2013 que, por sua vez, desconstrói a ótica civilista contida no artigo 82 do Código Civil, segundo a qual os animais são meros objetos de direito.

A prática da eutanásia permanece como instrumento que pode ser incorporado ao ordenamento jurídico infraconstitucional pelo Projeto de Lei nº 6.474/2013. Em seu texto, a medida extrema seria “permitida nos casos de males, doenças graves ou enfermidades infectocontagiosas incuráveis que coloquem em risco a saúde de pessoas ou de outros animais”. Contudo, a proposta legislativa procura limitar a atuação dos órgãos de controle de zoonoses, criando a figura jurídica do “resgate” do animal com enfermidade incurável por entidade de proteção dos animais. Define-se, assim, maior rigor na adoção de uma intervenção fatal, obrigando a existência de

laudos conclusivos, como exige a jurisprudência dos diversos tribunais do país. Nesse sentido, o Tribunal de Justiça de Minas Gerais decidiu que “ainda que existente exame positivo para Leishmaniose Visceral Canina, a verificação da real condição do cão, ainda que urgente, deve ser apurada antes da determinação da medida extrema de sacrifício do animal” (Minas Gerais, 2013).

No item 7.3.1 “Eutanásia de cães do manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral”, a eutanásia canina surge como medida “recomendada a todos os animais sororreagentes e/ou parasitológico positivo” (Brasil, 2014). Essa prática, conforme sustentada e estimulada pelo Ministério da Saúde, encontra duas resistências claras e de distintos Poderes da União: a) primeiramente, o Legislativo sinaliza, claramente, a opção por reconhecer os animais como seres sencientes, o que significa a ampliação da proteção jurídica no que se refere ao direito à vida dos animais; b) em segundo lugar, é preciso destacar a posição reiterada do Poder Judiciário em proteger os animais dos abusos humanos, como no caso das ditas manifestações culturais da farra do boi, e, especificamente, contra o sacrifício de animais acometidos pela LV.

Não parece haver dúvida quanto ao isolamento, neste quesito, do Executivo (ora representado pelo Ministério da Saúde) na compreensão sobre as melhores práticas governamentais para a manutenção da harmonia social, a garantia dos direitos sociais e da saúde pública. É preciso, portanto, que haja uma revisão na política pública aqui discutida para que esta seja colocada em consonância com o arcabouço jurídico-institucional do país. Não se trata apenas de mera concordância com a interpretação dos demais poderes, mas de obediência aos preceitos constitucionais violados pelo uso do sacrifício animal em larga escala como solução para a LV. Essa prática, em última análise, viola flagrantemente os princípios da prevenção e da precaução, além de estar presa a uma estrita interpretação antropocêntrica dos preceitos constitucionais que, reforça-se, vem sendo enfrentada por autores, legisladores e magistrados do país.

Ainda que não previsto tacitamente, tomando por base os preceitos constitucionais, os autores

pesquisados, a jurisprudência nacional e a legislação ambiental em vigor, “podemos concluir que os animais são sujeitos de direitos e que seus direitos são deveres de todos os homens” (Dias, 2006). Percebemos que direitos fundamentais, como o direito à vida, começam a extrapolar a dimensão humana para alcançar um mínimo de eficácia no mundo real e, conseqüentemente, representar a expressão jurídica dos valores éticos de uma sociedade democrática, entre os quais a tutela dos direitos dos animais, silvestres e domésticos ganha relevo no Direito Ambiental brasileiro neste século XXI.

Pelo conjunto de argumentos científicos e jurídicos até aqui analisados, essa nos parece ser a leitura mais atual e holística do texto constitucional. E, assim sendo, não há espaço para a sustentação de políticas públicas que estejam contra os objetivos fundamentais do Estado Democrático de Direito. A adoção da eutanásia de cães soropositivos como instrumento central de política de saúde pública, defendida pelo Ministério da Saúde em seu Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral, afronta o reconhecimento dos animais como seres sencientes, ignorando melhores práticas assentadas em robustas evidências científicas e, conseqüentemente, em descompasso com o conjunto de normas e princípios que informam o Direito Ambiental brasileiro (como será detalhado na próxima seção). Em síntese, as medidas adotadas pelo Ministério da Saúde desrespeitam o preceito de constitucionalidade das ações governamentais e não encontram eco entre as medidas juridicamente aceitáveis para assegurar o direito ao meio ambiente ecologicamente equilibrado para as gerações presentes e futuras.

Ampliando e inter-relacionando os diversos fatores intervenientes na configuração do fenômeno analisado

Mudanças ambientais potencializam a emergência de zoonoses, o desmatamento altera as condições naturais dos habitats de hospedeiros silvestres e vetores (Machado, C. J. S., 2013), podendo estes se

aproximarem do ambiente peridomiciliar (WHO, 2010; Brasil, 2014). O fato se agrava quando, no peridomicílio, encontram-se condições propícias para a criação de flebotomíneos, como áreas sombreadas e úmidas, abrigos de animais domésticos e árvores frutíferas. Com disponibilidade de criadouro, abrigo e fonte alimentar, é razoável acreditar que certas espécies de vetores adaptam-se bem ao ambiente antrópico e estabelecem um ciclo de transmissão peridomiciliar da doença (Ferreira; Moraes, 2011).

O protocolo padrão na detecção da doença se caracteriza pelo diagnóstico precoce e o tratamento adequado dos casos humanos. O emprego de inseticidas e medidas de saneamento do meio doméstico para a redução da densidade do vetor são medidas cautelares, previstas no Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (Brasil, 2014), que ilustram a essência do princípio da prevenção no Direito Ambiental e deveriam ser privilegiadas e colocadas em prática com a completa extinção da eliminação dos reservatórios.

Estudos apontam que em Araçatuba (São Paulo) praticamente a metade das pessoas que perderam seus cães eutanasiados adquiriram novos cães posteriormente (Dantas-Torres, 2007; Andrade, 2006). Além disso, a renovação torna a população canina mais jovem e as implicações epidemiológicas desse fato incluem maior suscetibilidade a diferentes doenças, maior prolificidade e baixa resposta imunológica a diversas vacinas contra importantes enfermidades como a raiva (Andrade, 2006; Dye, 1996), por exemplo.

Um modelo matemático desenvolvido para avaliar as medidas de controle da LV já salientou que uma parcela de cães sacrificados é reposta pela população na tentativa de compensar a perda de seu animal de estimação, o que influencia negativamente o controle através da eutanásia de cães positivos (Dye, 1996; Jansen; Roque, 2010). Estudo longitudinal sobre a dinâmica populacional em área endêmica para LV (Jequié/BA) também concluiu que a eutanásia de cães positivos, mesmo quando realizada com eficiência, não reduz a incidência da leishmaniose visceral canina (doravante, LVC) (Marcondes et al., 2011).

Tem sido postulado que a população canina

em áreas endêmicas é provavelmente composta por quatro grupos: aqueles suscetíveis à doença, aqueles que se tornam suscetíveis latentes, aqueles resistentes ao flebotomíneo (assintomáticos) e aqueles infecciosos. Diante dessa realidade, estudos apontam que a remoção de cães soropositivos pode gerar um efeito contrário no controle da LV. Uma proporção desses cães infectados pode nunca se tornar infecciosa, mas estes animais podem ser substituídos por cachorros susceptíveis à infecção, já que vimos anteriormente que a população, de forma geral, repõe os cães eutanasiados. A incerteza que reside na gênese dessa prática configura um dos elementos centrais para a aplicação do princípio da precaução. Nesse caso, a correta adoção do referido princípio implicaria em postergar as ações de remoção/sacrifício dos cães até que haja certeza científica quanto à eficácia dessa prática e que não acarretará danos graves ou irreversíveis. Dados científicos comprovam que somente uma porcentagem (43%) dos cães infectados torna-se infecciosa; no entanto, o controle orientado para esses cães exigiria um teste de diagnóstico específico para cães infectantes. São desconhecidos, entretanto, os fatores que determinam se um cão irá tornar-se infeccioso após estar contaminado por leishmaniose (Jansen; Roque, 2010).

Outro dado de realidade a ser aqui ressaltado diz respeito ao fato de um cão não ser o único agente reservatório. Supõe-se que quando raposas e gambás infectados alimentam-se perto de habitações humanas, contribuem para a transmissão do parasita a cães ou humanos, o que torna esses animais um importante reservatório peridoméstico.

Uma modelagem matemática sugere que os programas de abate falham em virtude da alta incidência de infecção e contágio, da insensibilidade do teste de diagnóstico para detecção de cães infecciosos e dos atrasos de tempo entre o diagnóstico e o abate (Dye, 1996). Os registros de saúde mostram que não há associação entre o abate generalizado - de 176 mil cães soropositivos entre 1990 e 1997 - e a redução no número de casos humanos (Jansen; Roque, 2010).

Diferentes estudos revelaram que, em áreas endêmicas com elevada prevalência da infecção, a maioria

dos cães é assintomática e fonte de infecção para os insetos vetores por causa do encontro de parasitos na pele (Cabral et al., 1998). A existência de animais assintomáticos, como também daqueles que apresentam sinais e sintomas sugestivos de outras doenças, dificulta o diagnóstico de LV (Jansen; Roque, 2010).

No Paraná, foram realizadas capturas de flebotomíneos antes e depois da reorganização de um peridomicílio, que consistiu em: redução do despejo de água e esgoto diretamente no solo por meio de encanamentos e criação de fossa séptica; reconstrução de abrigos de animais domésticos a uma distância de pelo menos 100 metros da residência; poda de árvores para aumentar a exposição do solo à luz solar e reduzir a umidade; remoção periódica de matéria orgânica do solo (folhas e frutas em decomposição, fezes de animais domésticos etc.). Os autores observaram uma redução da população de flebotomíneos em cerca de 90% (Teodoro et al., 2004). Alguns anos depois, as características peridomiciliares retornaram às condições iniciais e a população de flebotomíneos voltou a crescer em 61%. Outro exemplo de ações combinadas e eficazes foi em Minas Gerais, onde o uso concomitante de três métodos de controle - coleiras de permetrina, controle do vetor e campanhas de conscientização da população - foi capaz de reduzir significativamente os números de casos humanos e caninos (Dye, 1996).

Vários trabalhos têm avaliado a eficácia tópica de inseticidas na prevenção da transmissão da LV em populações caninas (Courtenay et al., 2002; Costa, 2011). Esses estudos se baseiam na teoria de que medidas preventivas como a conscientização da população sobre o problema, o reconhecimento, por parte da população, do risco pessoal de contração da doença e a adoção de medidas de controle do risco são mais eficazes que a eutanásia desses animais. As diversas evidências científicas existentes que indicam caminhos contrários ao adotado pelo Ministério da Saúde configuram elementos suficientes para que a eutanásia seja ao menos suspensa até que haja consenso técnico-científico para embasar a política pública de saúde que visa ao combate da LV. Postergar no tempo e no espaço a prática da eutanásia significa desobediência aos princípios de Direito Ambiental, mencionados anteriormente,

e a falta de observância de melhores técnicas disponíveis, contrariando os ditames constitucionais da eficiência pública. Além desses aspectos científicos e jurídicos, a suspensão imediata das práticas de eutanásia se assenta sobre os preceitos éticos de respeito aos direitos dos seres sencientes.

As relações entre humanos e animais têm sido reconhecidas como benéficas para a saúde humana (Machado, 2012, 2013). Animais de estimação têm um papel de apoio emocional e social, principalmente para a população mais idosa. A morte compulsória desses animais, além de gerar um grande custo emocional, vai contra os valores constitucionais de bem-estar da vida animal.

A eutanásia é considerada uma prática ilegal segundo o Código Penal brasileiro, sendo sua regulamentação objeto de discussão no processo de tramitação do novo Código Penal, e vai de encontro aos princípios éticos da medicina humana praticada no Brasil. Porém, para não humanos, essa prática não se configura crime e é rotineiramente praticada em nome da saúde pública, à revelia da determinação constitucional, mesmo com evidências científicas validadas pelos pares, de livre acesso, como as descritas acima, comprovando a ineficácia desse método de extermínio.

Diversos trabalhos apontam para um método de uso combinado de estratégias no controle da leishmaniose em abandono da eutanásia (Marcondes et al., 2011; Courtenay et al., 2002; Costa, 2011). Merecem destaque aquelas que podem ser decisivas para a saúde pública no combate à leishmaniose: campanhas educativas que orientem a população no combate ao vetor; profilaxia das residências, com medidas de higiene; uso de coleiras com ativo de repelente para os cachorros; investimento em pesquisa para elaboração de vacinas; conscientização sobre o perigo da doença e medidas de combate à pobreza e à desnutrição. A importância do conhecimento dos proprietários de cães para a prevenção zoonótica da leishmaniose (Ferreira; Moraes, 2001) é insubstituível. Para a realização de inquérito sobre o conhecimento da população sobre a doença, um dos métodos qualitativos utilizados é a aplicação de questionários com apresentação de material informativo sobre a doença, objetivando a sensibilização

sobre a doença e os desdobramentos relacionados a ela, incluindo a opinião dos entrevistados sobre a eutanásia dos cães soropositivos.

Outro fator importante nesse debate em prol de uma política pública sustentável é o título sorológico (Courtenay et al., 2002; Costa, 2011). Hoje em dia, o ponto de corte dessa titulação, para realizar a eutanásia nos animais, é de 1/40, conforme exige o Ministério da Saúde. No entanto, existe a possibilidade de ocorrer reação cruzada com outros parasitos no teste sorológico, o que exigiria outra prova parasitológica associada (Courtenay et al., 2002; Costa, 2011), tornando o método pouco confiável para nortear diretrizes de políticas públicas.

Apesar das evidências científicas contrárias à prática da eutanásia como medida eficaz para o combate à doença e, por consequência, de garantia da saúde pública, a Advocacia Geral da União (Brasil, 2012), em 2012, emitiu um parecer jurídico sustentando que as ações (eutanásia) promovidas para o controle da leishmaniose visceral, por parte do Ministério da Saúde, eram respaldadas por evidências científicas robustas. Contudo, da leitura do parecer, a robustez sustentada-se na opinião de um único especialista contratado pelo próprio Ministério da Saúde. Os elementos de convencimento adotados foram a expansão da doença no país e o seu grau de letalidade. Como conclusão, a Advocacia Geral da União defende “que a eutanásia dos cães infectados pela leishmaniose é medida que se impõe, sob pena de evidente e irreversível prejuízo ao interesse público (aqui representado pela saúde pública e vidas humanas) e caracteriza-se por ser: cientificamente respaldada, indispensável ao êxito das ações e razoável na ponderação dos interesses envolvidos” (Brasil, 2012).

O parecer, visto que pautado em uma opinião isolada, desconsiderou evidências científicas que já comprovaram que a estratégia de remoção de reservatórios é menos eficiente do que o controle dos vetores. Em uma simulação do impacto de diferentes estratégias sobre a transmissão da leishmaniose foi mostrado que a eliminação de reservatórios vertebrados é muito menos eficiente do que as vacinas, intervenções nutricionais ou o uso de inseticidas (Courtenay et al., 2002).

A estrutura político-institucional vigente sustenta o Brasil como o único país do mundo com um programa de extermínio de cães em larga escala para controlar a LV (Costa, 2011). Ou seja, uma instância do Poder Executivo Federal institucionaliza ação contrária ao próprio ordenamento jurídico nacional que caminha para normatizar os animais como sujeitos de direito. Fica patente no país que a falta de consenso científico na escolha da melhor política de saúde para o controle da doença concorre para que se ignore ou se “interprete” mal a ciência disponível. Atualmente, uma medida legal para o reforço da política de abate de todos os animais soropositivos está sendo desenvolvido pelo Ministério da Saúde pela Assessoria Jurídica Brasileira Consultoria e Escritório (Parecer/CODELEGIS/CONJUR/GABIN/MS/LP N 1243/2009). A perda de neutralidade durante a interpretação da informação científica que ocorreu dentro do próprio Estado foi provavelmente facilitada pelo fato da leishmaniose visceral zoonótica ser uma doença negligenciada, cujo controle atualizado, através de pesquisas sistemáticas, depende quase que inteiramente da burocracia do Estado em viabilizar ou retardar esse processo (Costa, 2011).

Conclusões

A Saúde Pública, como um dos campos de conhecimento, está voltada diretamente para a solução dos problemas da população humana e que a ela afetam, e suas relações com o ambiente do qual faz parte. Uma das maneiras de concretizar essas relações para tomar decisões melhor fundamentadas é pela informação publicada e disseminada, particularmente aquelas referentes às evidências científicas.

Assim, ao término deste trabalho, chega-se à conclusão de que a eutanásia, que deveria servir como instrumento para diminuir a ocorrência de uma doença emergente no Brasil, como a leishmaniose visceral, parece influenciar mais na estrutura da população canina do que no seu tamanho; as implicações epidemiológicas resultantes de uma população canina mais jovem podem ser graves. Portanto, programas de posse responsável de cães

com enfoque na qualidade de vida dos animais, em consonância ao ordenamento jurídico do meio ambiente e os princípios de Direito Ambiental, configuram-se como mais adequados do que a técnica de controle populacional em áreas endêmicas para leishmaniose visceral.

Ao mesmo tempo, a identificação de características no peridomicílio das áreas estudadas, que são importantes para a manutenção do ciclo de vida do vetor, permite que medidas de manejo ambiental sejam alternativas viáveis para a redução do contato do vetor com o homem. Associadas a essas ações, a educação em saúde torna-se um bom instrumento preventivo de intervenção do Poder Público para orientar a população e reduzir a ocorrência de casos humanos de leishmaniose.

Evidências científicas demonstram que sacrificar cães não diminui a prevalência local de leishmaniose por causa de diversos fatores, como o fluxo constante de animais para a população com pouco manejo reprodutivo. A insistência na prática da eutanásia no Brasil, expressa no Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral do Ministério da Saúde, deflagra uma violação ao princípio da precaução, pautado na adoção de medidas cautelares com base científica. Ao postergar a revisão desta política pública de saúde, o Ministério da Saúde segue os preceitos constitucionais em vigor. A Constituição Federal visa a uma ampla tutela do ambiente natural que não pode ser limitada a uma perspectiva antropocêntrica e utilitarista de recursos naturais, da fauna e da flora. No século XXI, conforme se evidenciou, há vasto reconhecimento dos animais como seres sencientes, inclusive em projetos de lei tramitando na Câmara dos Deputados. A proteção dos animais pelo Legislativo e pelo Judiciário tem acompanhado os mais elevados preceitos éticos das sociedades contemporâneas. Esse reconhecimento deve, também, ser seguido pelo Poder Executivo por meio da extinção da prática da eutanásia de cães, não apenas por se configurar uma prática ilegal e sem amparo científico, mas por representar um desvio do Estado na sua missão de construir uma sociedade livre, justa e solidária. Com o sacrifício de um animal, muitas vezes está se retirando um cão que seria resistente e colocando no lugar outro

com sistema imune sem nenhuma resistência (no caso dos filhotes), em um local com diversos vetores. Assim, o próprio Poder Público está contribuindo para o aumento da prevalência da doença no local. A eutanásia é cara, laboriosa e tem alta carga emocional para quem perde seu animal. Em vez de alocar recursos na realização de sacrifício animal, parte dessa verba poderia ser utilizada para um programa de política pública preventiva, substituindo a eutanásia por métodos de controle mais eficazes, condizentes com o ordenamento jurídico nacional e os princípios de direito ambiental. A prática oficial extensiva de extermínio de animais de estimação não é condizente com as evidências científicas atuais, os valores das ciências e da sociedade brasileira do século XXI (Machado, C. J. S. 2013).

Referências

- AGUILAR, C. M. et al. Zoonotic cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania (Viannia) braziliensis* associated with domestic animals in Venezuela and Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 84, n. 1, p. 19-28, 1989.
- ANDRADE, A. M. *Dinâmica populacional canina na área urbana do município de Araçatuba, SP*. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2006.
- ASHFORD, R. W. Leishmaniasis reservoir and their significance in control. *Clinics in Dermatology*, New York, v. 14, n. 5, p. 523-532, 1996.
- BRANDÃO-FILHO, S. P. et al. Wild and synanthropic hosts of *Leishmania (Viannia) braziliensis* in the endemic cutaneous leishmaniasis locality of Amaraji, Pernambuco, Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, Oxford, v. 97, n. 3, p. 291-296, 2003.
- BRASIL. Advocacia-Geral da União. *Parecer nº 809/2012-AGU/CONJUR-MS/AVA*. Eutanásia como política pública de controle da Leishmaniose Visceral, em cães infectados. Brasília, DF, 2012. Disponível em: <<http://www.agu.gov.br/page/download/index/id/23472018>>. Acesso em: 14 out. 2015.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. *Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral*. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2014.
- BRASIL. Supremo Tribunal Federal. *Ação direta de inconstitucionalidade 3.776-5 Rio Grande do Norte*. Brasília, DF, 14 jun. 2007. Disponível em: <<http://redir.stf.jus.br/paginadorpub/paginador.jsp?docTP=AC&docID=469712>>. Acesso em: 11 fev. 2015.
- BRASIL. Supremo Tribunal Federal. *Recurso extraordinário n. 153.531-8 Santa Catarina*. Brasília, DF, 3 jun. 1997. Disponível em: <<http://redir.stf.jus.br/paginadorpub/paginador.jsp?docTP=AC&docID=211500r>>. Acesso em: 11 fev. 2015.
- CABRAL, M. et al. The immunology of canine leishmaniasis: strong evidence for a developing disease spectrum from asymptomatic dogs. *Veterinary Parasitology*, New York, v. 76, n. 3, p. 173-180, 1998.
- CAMPBELL-LENDRUM, D. et al. Domestic and peridomestic transmission of American cutaneous leishmaniasis: changing epidemiological patterns present new control opportunities. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 96, n. 2, p. 159-162, 2001.
- CHAGAS, E. et al. Leishmaniose visceral americana: relatório dos trabalhos realizados pela Comissão Encarregada do Estudo da Leishmaniose Visceral Americana em 1937. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 33, n. 1, p. 89-229, 1938.
- CLABORN, D. M. *Leishmaniasis: trends in epidemiology, diagnosis and treatment*. Rijeka: InTech, 2014.
- COSTA, C. H. N. How effective is dog culling in controlling zoonotic visceral leishmaniasis? A critical evaluation of the science, politics and ethics behind this public health policy. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, Uberaba, v. 2, n. 44, p. 232-242, 2011.
- COURTENAY, O. et al. Infectiousness in a cohort of Brazilian dogs: why culling fails to control visceral leishmaniasis in areas of high transmission. *Journal of Infectious Diseases*, Oxford, v. 186, n. 9, p. 1314-1320, 2002.
- DANTAS-TORRES, F. The role of dogs as reservoirs of *Leishmania* parasites, with emphasis on

- Leishmania (Leishmania) infantum and Leishmania (Viannia) braziliensis. *Veterinary Parasitology*, New York, v. 149, n. 3-4, p. 139-146, 2007.
- DEANE, L. M. *Leishmaniose visceral no Brasil*. Rio de Janeiro: Serviço Nacional de Educação Sanitária, 1956.
- DERANI, C. *Direito ambiental econômico*. São Paulo: Max Limonad, 2001.
- DIAS, E. C. Os animais como sujeitos de direitos. *Revista Brasileira de Direito Animal*, Salvador, v. 1, n. 1, p. 119-121, 2006.
- DSJEUX, P. The increase in risk factors for the leishmaniasis worldwide. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, Oxford, v. 95, n. 14, p. 239-243, 2001.
- DUJARDIN, J. C. Risk factors in the spread of leishmaniasis: towards integrated monitoring? *Trends in Parasitology*, New York, v. 22, n. 1, p. 4-6, 2005.
- DYE, C. The logic of visceral leishmaniasis control. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Oakbrook Terrace, v. 55, n. 2, p. 125-130, 1996.
- FAUSTO, E.; BEAVER, J.; JUNG, R. *Animal agents and vectors of human diseases*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1973.
- FERREIRA, A. W.; MORAES, S. L. *Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e autoimunes*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.
- JANSEN, A. M.; ROQUE, A. L. R. Domestic and wild mammalian reservoirs. In: TELLERIA, J.; TIBYARENC, M. (Ed.). *American Trypanosomiasis: chagas disease*. London: Elsevier, 2010. p. 249-276.
- MACHADO, C. J. S. *Ciências, políticas públicas e sociedade sustentável*. Rio de Janeiro: E-Papers, 2012.
- MACHADO, C. J. S. *Animais na sociedade brasileira: práticas, relações e interdependências*. Rio de Janeiro: E-Papers, 2013.
- MACHADO, C. J. S. *Desenvolvimento sustentável para o Antropoceno*. Rio de Janeiro: E-Papers, 2014.
- MACHADO, P. A. L. *Direito ambiental brasileiro*. São Paulo: Malheiros, 2013.
- MADEIRA, M. F. et al. Leishmania (Viannia) braziliensis em cães naturalmente infectados. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, Uberaba, v. 36, n. 551, p. 5, 2003.
- MAIA, C.; CAMPINO, L. Can domestic cats be considered reservoir hosts of zoonotic leishmaniasis? *Trends in Parasitology*, New York, v. 27, n. 8, p. 341-344, 2011.
- MARCONDES, M. et al. *Textbook of zoonoses: biology, clinical practice, and public health control*. New York: Oxford University Press, 2011.
- MINAS GERAIS. Tribunal de Justiça de Minas Gerais. *Agravo de instrumento 10105130144535001 MG*. Belo Horizonte, 2013. Disponível em: <<http://bit.ly/1zMmjfr>>. Acesso em: 11 fev. 2015.
- QUINNELL, R. J.; COURTENAY, O. Transmission reservoir host of zoonotic visceral leishmaniasis. *Parasitology*, Cambridge, v. 136, n. 14, p. 1915-1934, 2009.
- SILVA, J. A. *Direito ambiental constitucional*. São Paulo: Malheiros, 1994.
- TEODORO, U. et al. Reorganization and cleanliness of peridomiciliar area to control sand flies (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) in South Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, Curitiba, v. 47, n. 2, p. 205-212, 2004.
- TOLEDO, M. I. V. A tutela jurídica dos animais no Brasil e no direito comparado. *Revista Brasileira de Direito Animal*, Salvador, v. 7, n. 11, p. 197-223, 2012.
- WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis*. Geneva: WHO Press, 2010.
- WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Research priorities for Chagas Disease, Human African Trypanosomiasis and Leishmaniasis*. Geneva: WHO, 2012.

Contribuição das autoras

Machado e Silva foram responsáveis pela concepção do trabalho. Silva e Vilani realizaram a revisão bibliográfica e Vilani realizou a pesquisa jurisprudencial e legislativa. Machado orientou o trabalho.

ANEXO B - Aprovação da pesquisa por parte da Associação de Moradores da Ilha Grande**Termo de Consentimento**

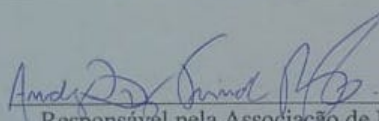
A Associação de moradores da Ilha Grande está sendo convidada a participar da pesquisa "**A influência do cachorro doméstico na Ilha Grande - RJ: Um estudo dos desdobramentos na mastofauna e na saúde pública**". Nesta etapa da pesquisa os cães serão submetidos a exames clínicos e coleta de 5ml de sangue através de punção venosa.

Na punção venosa pode ocorrer flebite (inflamação da veia), edema local e extravasamento de sangue, sendo realizada compressão local até interrupção. A identificação dos animais será mantida em sigilo e a participação nesse estudo não acarretará em qualquer custo financeiro para o proprietário.

Se houver algum problema em relação aos procedimentos realizados nos cães a responsável pela pesquisa (Érica Gaspar) poderá ser encontrada pelos telefones: (21) 32714011 ou (21) 992192399.

O presente estudo além de trazer um benefício direto aos proprietários de cães da região de estudo, que terão a possibilidade de diagnosticarem seus animais em relação a uma zoonose grave como a leishmaniose visceral, região que atualmente não é realizado esse diagnóstico pela secretaria municipal de saúde, estarão também contribuindo para o desenvolvimento de novas técnicas de diagnósticos para LVC mais sensíveis e específicas.

Angra dos Reis, 05 de JANEIRO 2017.



Responsável pela Associação de Moradores da Ilha Grande

ANEXO C - CEUA



COMISSÃO DE ÉTICA PARA O CUIDADO E USO
DE ANIMAIS EXPERIMENTAIS (CEUA)



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Impacto do cachorro domestico na Ilha Grande – RJ: suas conseqüências no ambiente e na saúde", registrada com o nº 032/2018, sob a responsabilidade de Helena de Godoy Bergallo - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009 e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA PARA O CUIDADO E USO DE ANIMAIS EXPERIMENTAIS (CEUA) do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da UERJ, em reunião de 24/05/2018.


Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigencia da autorização	24/05/2022
Espécie/linhagem/raça	Cachorro domestico
Nº de animais	500
Peso/Idade	indeterminado / indeterminado
Sexo	indeterminado
Origem	domicilio

Rio de Janeiro, 24 de Maio de 2018.

Prof. Dr. Alex C. Manhães
Coordenador
CEUA/IBRAG/UERJ

Profa. Dra. Patricia C. Lisboa
Vice-Coordenadora
CEUA/IBRAG/UERJ

ANEXO D - Questionário preliminar sobre saúde aplicado aos moradores da Ilha Grande.

Questionário de Saúde			
INFORMAÇÕES GERAIS			
Data:	Hora:	Ficha N°:	Rua:
Localização/Ref:		Coordenada (UTM): /	
Nome do entrevistado:		Contato:	
Profissão:		Quantas pessoas moram na casa? Homens: Mulheres: Crianças: Adolescentes:	
Possui algum problema de saúde?		Qual (is)?	
Toma algum medicamento regular?		Qual (is)?	
Adoeceu no último ano?		Qual(is) a(s) doença(s)?	
Quando adoece onde procura assistência?		Tem plano de saúde?	
Já contraiu alguma zoonose de cachorro?		Qual (is)?	
Quantas vezes ao ano vai ao médico fora da IG?			
Já foi atacado(a) por cachorro aqui na IG?		Se sim, tomou vacina de raiva?	
Sabe o que é zoonose?			
Já ouviu falar de leishmaniose?		Conhece alguém que tenha tido?	

ANEXO E - Termo de consentimento do proprietário do animal amostrado

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Termo de Consentimento

A Associação de moradores da Ilha Grande está sendo convidada a participar da pesquisa “**A influência do cachorro doméstico na Ilha Grande - RJ: Um estudo dos desdobramentos na mastofauna e na saúde pública**”. Nesta etapa da pesquisa os cães serão submetidos a exames clínicos e coleta de 5ml de sangue através de punção venosa.

Na punção venosa pode ocorrer flebite (inflamação da veia), edema local e extravasamento de sangue, sendo realizada compressão local até interrupção. A identificação dos animais será mantida em sigilo e a participação nesse estudo não acarretará em qualquer custo financeiro para o proprietário.

Se houver algum problema em relação aos procedimentos realizados nos cães a responsável pela pesquisa (Érica Gaspar) poderá ser encontrada pelos telefones: (21) 32714011 ou (21) 992192399.

O presente estudo além de trazer um benefício direto aos proprietários de cães da região de estudo, que terão a possibilidade de diagnosticarem seus animais em relação a uma zoonose grave como a leishmaniose visceral, região que atualmente não é realizado esse diagnóstico pela secretaria municipal de saúde, estarão também contribuindo para o desenvolvimento de novas técnicas de diagnósticos para a doença mais sensíveis e específicas.

Angra dos Reis, _____ de _____ 2018.

Proprietário

Endereço: R. São Francisco Xavier, 524. PHLC,
sala 224. Maracanã, Rio de Janeiro. Fone: (21)
2334-0260

Pesquisador Responsável: Érica Gaspar
Telefone: (21) 992192399

ANEXO F - Porcentagem de similaridade do isolado de *Trypanosoma caninum*

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected: 0

Alignments [Download](#) [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#)

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input type="checkbox"/> Trypanosoma caninum isolate 118 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	885	885	99%	0.0	100%	GU385625.1
<input type="checkbox"/> Trypanosoma caninum isolate R194E 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	880	880	98%	0.0	100%	KF905470.1
<input type="checkbox"/> Trypanosoma caninum isolate R1176 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	880	880	98%	0.0	100%	KF905468.1
<input type="checkbox"/> Trypanosoma caninum isolate R042 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	880	880	98%	0.0	100%	KF905462.1
<input type="checkbox"/> Trypanosoma caninum isolate R003 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	880	880	98%	0.0	100%	KF905460.1
<input type="checkbox"/> Trypanosoma caninum isolate R8150 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	880	880	98%	0.0	100%	JF951431.1
<input type="checkbox"/> Trypanosoma caninum isolate MT799 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	880	880	98%	0.0	100%	JF907537.1
<input type="checkbox"/> Trypanosoma caninum isolate MT669 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	880	880	98%	0.0	100%	JF907533.1
<input type="checkbox"/> Trypanosoma caninum isolate GO533 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	880	880	98%	0.0	100%	JF907529.1
<input type="checkbox"/> Trypanosoma caninum isolate SP393 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	880	880	98%	0.0	100%	JF907528.1
<input type="checkbox"/> Trypanosoma caninum isolate SP350 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	880	880	98%	0.0	100%	JF907525.1
<input type="checkbox"/> Trypanosoma caninum isolate GO719 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	880	880	98%	0.0	100%	JF907522.1
<input type="checkbox"/> Trypanosoma caninum isolate MG771 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	880	880	98%	0.0	100%	JF907521.1
<input type="checkbox"/> Trypanosoma caninum isolate MG764 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	880	880	98%	0.0	100%	JF907520.1
<input type="checkbox"/> Trypanosoma caninum isolate SP269 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	880	880	98%	0.0	100%	JF907519.1
<input type="checkbox"/> Trypanosoma caninum isolate SP137 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	880	880	98%	0.0	100%	JF907518.1
<input type="checkbox"/> Trypanosoma caninum isolate MT531 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	880	880	98%	0.0	100%	JF907513.1
<input type="checkbox"/> Trypanosoma caninum isolate MT527 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	880	880	98%	0.0	100%	JF907511.1
<input type="checkbox"/> Trypanosoma caninum isolate R066 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	880	880	98%	0.0	100%	JF907510.1

Go to alignment for Trypanosoma caninum isolate MG764 18S ribosomal RNA gene, partial sequence