

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS V – MINISTRO ALCIDES CARNEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E SOCIAIS APLICADAS
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

MARIA RAILMA VIEIRA DE FREITAS

ANÁLISE MACROSCÓPICA DAS PRINCIPAIS VÍSCERAS ACOMETIDAS POR
LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA

JOÃO PESSOA – PB
2011

MARIA RAILMA VIEIRA DE FREITAS

ANÁLISE MACROSCÓPICA DAS PRINCIPAIS VÍSCERAS ACOMETIDAS POR
LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC), apresentado junto ao curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento as exigências para obtenção do grau de bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Dr. Marcos Antônio Jerônimo Costa
Co-Orientador: Ms. Felipe Eduardo da Silva Sobral

JOÃO PESSOA- PB
2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA SETORIAL CAMPUS V – UEPB

F866a Freitas, Maria Railma Vieira de.
Análise macroscópica de fígado e baço de cães acometidos por leishmaniose visceral / Maria Railma Vieira de Freitas. – 2011. 30f.

Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e Sociais Aplicadas, Curso de Ciências Biológicas, 2011.
“Orientação: Prof. Dr. Marcos Antônio Jerônimo Costa, Curso de Ciências Biológicas; Co-Orientação: Ms. Felipe Eduardo da Silva Sobral ”.

1. Leishmaniose visceral. 2. Calazar. 3. Análise macroscópica.
I. Título.

21. ed. CDD 616.936 4

MARIA RAILMA VIEIRA DE FREITAS

ANÁLISE MACROSCÓPICA DAS PRINCIPAIS VISCERAS ACOMETIDAS POR
LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA

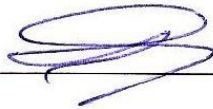
Trabalho de Conclusão de Curso (TCC), apresentado junto ao curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento as exigências para obtenção do grau de bacharel em Ciências Biológicas.

Aprovado em 24 de 11 de 11

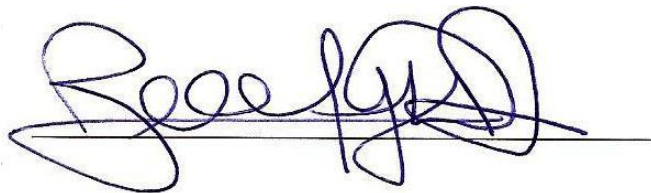
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Marcos Antônio Jerônimo Costa
Orientador



Prof.ª Catarina Maria Andrade Figueiredo Guimarães Maia
Examinadora



Prof. Dr. Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno
Examinador

AGRADECIMENTOS

A *Deus*, pela vida, saúde, força e conquista de realizar esse sonho.

A minha querida mãe, *Raimunda Vieira*, pelo amor, incentivo, compreensão e paciência.

Ao meu irmão *Ronaldo* e minha cunhada *Talita*, pela estadia, apoio, paciência, incentivo, dedicação, carinho e confiança.

Aos meus irmãos, *Reginaldo* e *Railton*, pelo apoio, força e confiança.

As minhas cunhadas, *Luzilene* e *Fabiana*, pela amizade, carinho e incentivo.

Aos meus sobrinhos, *Karine* e *Pedro Ramom*, pelo amor, carinho e momentos de alegria.

Ao orientador *Marcos Costa*, pela paciência, incentivo, amizade e confiança.

Ao co-orientador *Felipe Eduardo Sobral*, pela paciência, apoio, dedicação e amizade.

A *Valberto* e *Eliete*, por serem mais do que amigos, anjos, na minha vida.

Aos meus *familiares*, *amigos*, *amigas* e aqueles que direto ou indiretamente contribuíram para a conclusão desse trabalho.

Minha sincera gratidão!

RESUMO

A leishmaniose visceral (LV) é considerada o tipo mais grave dentre as leishmanioses. O agente etiológico envolvido em tal enfermidade é a *Leishmania (Leishmania) chagasi*, transmitido de um hospedeiro vertebrado a outro por meio de um inseto, *Lutzomyia longipalpis*, sendo os cães os principais reservatórios urbanos dessa parasitose e considerado um importante elo na cadeia de transmissão da LV. As leishmanias são parasitas intracelulares obrigatórios que se reproduzem por divisão binária no interior das células do Sistema Fagocítico Mononuclear (SFM) dos hospedeiros vertebrados. O objetivo geral deste trabalho foi verificar as alterações morfológicas do baço e do fígado em caninos acometidos por LV. Esse trabalho foi realizado no Centro de Controle de Zoonoses (CCZ), do município de João Pessoa (PB), responsável pela eutanásia de cães soropositivos para leishmaniose canina. Desta forma, foram avaliados 30 caninos, destes 25 com característica “reagente” para reação de imunofluorescência indireta e 05 “não reagente”. Os animais foram agrupados em 03 grupos: reagentes sintomáticos, reagentes assintomáticos e grupo controle, e em seguida submetidos a procedimento eutanásico sob responsabilidade exclusiva do veterinário do CCZ sendo posteriormente efetuado mensurações externa das carcaças, necropsias e avaliações de baço e fígado. Na avaliação clínica dos animais evidenciou-se ceratoconjuntivite e onicogribose como os sinais mais frequentes nos infectados, seguidos por dermatites. O peso do fígado, seu peso relativo e o escore corporal dos animais apresentaram diferença estatística significativa entre os grupos estudados. Sintomas como congestão hepática e esplênica foram aspectos comumente encontrados. No baço, foi comum a presença de áreas com hemorragias. Foi possível concluir que, as alterações hepatoesplênicas macroscópicas apresentadas pelos animais com LV são diversas, assim como os sinais clínicos avaliados superficialmente.

Palavras- chave: Cães; Calazar; leishmaniose visceral.

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO	6
2- REVISÃO DA LITERATURA.....	8
3 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:.....	11
CAPÍTULO 1	13
ANEXO I.....	27
ANEXO II	28
ANEXO III.....	29

1- INTRODUÇÃO

As leishmanioses são infecções parasitárias que acometem animais domésticos, silvestres e o homem (BARCELOS, 2009). São ocasionadas por protozoários da ordem Kinetoplastida, Família Trypanosomatidae e gênero *Leishmania*, que podem comprometer a pele, as mucosas e as vísceras (REY, 1991). Dentre as leishmanioses, o tipo visceral é considerado a forma mais grave (MATTOS Jr, et al., 2004). Nas Américas, a espécie responsável por essa enfermidade é a *Leishmania (Leishmania) chagasi* (NEVES et al., 2005; BRASIL, 2006; TASCA et al., 2009) e a espécie *Lutzomyia longipalpis* a principal transmissora desse parasito para os hospedeiros vertebrados (GONTIJO & MELO, 2004). Enquanto os cães são os principais reservatórios urbanos dessa parasitose, sendo considerado um importante elo na cadeia de transmissão da Leishmaniose Visceral (LV) (GONTIJO & MELO, 2004; BRASIL, 2006; AZEVEDO, et al., 2008; SANTOS, 2008).

As leishmanias são parasitos intracelulares obrigatórios que se reproduzem por divisão binária no interior das células do Sistema Fagocítico Mononuclear (SFM) dos hospedeiros vertebrados e apresentam uma forma flagelada ou promastigota encontrada no tubo digestivo do inseto vetor e outra aflagelada ou amastigota nos tecidos dos vertebrados (BARCELOS, 2009). Em cães, a infecção da leishmaniose visceral é clinicamente semelhante à humana, apesar de que, no cão, além do comprometimento das vísceras, são também encontradas lesões de pele nos animais infectados e sintomáticos (KRAUSPENHAR et al., 2007).

Geralmente o quadro clínico da leishmaniose visceral canina (LVC) inicia-se com lesões cutâneas, pequenas úlceras rasas e pelo opaco. Com a evolução da doença, observa-se, com grande frequência, onicogribose, esplenomegalia, linfadenopatia, alopecia, dermatites, úlceras de pele, ceratoconjuntivite, coriza, apatia, diarreia, hemorragia intestinal, além da hiperqueratose. (BRASIL, 2006). Os órgãos linfóides, pele, fígado, baço são os mais afetados, caracterizados por um processo inflamatório crônico e proliferativo com infiltrados de macrófagos, linfócitos e células plasmáticas. (MELO, 2004). Destes, a medula óssea, o fígado e o baço são os que apresentam maior crescimento parasitário e modificações fisiopatológicas (SANTOS, 2008). As lesões macroscópicas frequentemente encontradas consistem em linfadenopatia acentuada, esplenomegalia e hepatomegalia (TASCA et al., 2009).

Dependendo da fase da doença e das condições imunológicas, muitos cães infectados apresentam-se assintomáticos. Entretanto, já foi demonstrado que cães infectados, mesmo

assintomáticos, são fontes de disseminação para os flebotomíneos e, conseqüentemente, têm papel ativo na transmissão de *Leishmania* para outros hospedeiros vertebrados, inclusive para o homem (PALATNICK - DE - SOUZA et al., 2001).

As estimativas mundiais, em relação à leishmaniose visceral, indicam que cerca de 200 milhões de pessoas encontram-se sob risco de adquirir a infecção e que 500 mil pessoas se infectam a cada ano. No ano de 2000, foram estimadas, na população mundial, 41 mil mortes causadas pela doença, o que a torna uma das doenças mais importantes da atualidade (GUERIN et al., 2002; BRASIL, 2006; MELO, 2008).

A leishmaniose visceral é cosmopolita e endêmica em 62 países nos quatro continentes, sendo a maioria destes classificados como em desenvolvimento. Cerca de 90% dos casos mundiais estão concentrados na Índia, Bangladesh, Nepal, Sudão e Brasil (GONTIJO & MELO, 2004; NEVES et al., 2005). Somente na América Latina, a doença já foi descrita em pelo menos 12 países (BRASIL, 2006). O Brasil vem observando uma expansão e uma urbanização da Leishmaniose nas diferentes regiões do país e atualmente é responsável por 90% dos casos de leishmaniose visceral nas Américas (GONTIJO & MELO, 2004; BRASIL, 2006; ALBULQUERQUE et al., 2007; SILVA, 2007; AZEVEDO et al., 2008).

Do ponto de vista epidemiológico, a LVC ou calazar canino, é considerado mais importante que em humanos, pois além de ser mais prevalente, há um grande contingente de animais infectados com o parasito cutâneo, servindo como fonte de infecção para o inseto vetor, *L. longipalpis*. Este fato caracteriza o cão como principal elo doméstico na cadeia de transmissão da doença. (NEVES et al., 2005).

2- REVISÃO DE LITERATURA

A leishmaniose visceral (LV) é uma doença sistêmica grave que acomete as células do Sistema Fagocítico Mononuclear (SFM) dos hospedeiros vertebrados (MELO, 2004). É considerada uma zoonose emergente devido à alta incidência e letalidade, principalmente em indivíduos desnutridos ou imunocomprometidos (ROMANOWSKI & FONSECA, 2008), reconhecida no Brasil e no mundo como uma doença de grande importância na saúde pública. (CASTRO, 2008). O cão é considerado o principal reservatório no ciclo peri-doméstico, desempenhando grande importância na epidemiologia da LV em áreas endêmicas (MATTOS Jr. et al., 2004; SILVA, 2007).

As espécies de *L. (L.) chagasi* possuem ciclo de vida heteroxênico, ou seja, habitam alternadamente em dois hospedeiros, possuindo uma forma flagelada ou promastigota, encontrada no tubo digestório do inseto vetor e outra aflagelada ou amastigota localizada nos tecidos dos hospedeiros vertebrados, sendo neste, parasita intracelular obrigatório encontrada no interior das células do SFM (BRASIL, 2006).

Quando a fêmea do inseto vetor pica o hospedeiro mamífero infectado, ingere formas amastigotas junto com o repasto sanguíneo, que por sua vez se transformam em promastigotas no tubo digestório do inseto. Ao se alimentarem novamente, esses depositam as formas promastigotas na pele do novo hospedeiro, que ao serem fagocitadas se transformam em amastigotas e passam a sobreviver dentro dos fagolisossomas se multiplicando repetidamente por divisão binária até as células parasitadas se romperem liberando as formas amastigotas que são fagocitadas por novos macrófagos (ROMANOWSKI & FONSECA, 2008).

Desta forma, ocorre à disseminação hematogênica para outros tecidos ricos em células do SFM, como linfonodos, fígado, baço e medula óssea. O ciclo se completa quando as amastigotas são ingeridas por novos flebotomíneos (MELO, 2004; BRASIL, 2006; ROMANOWSKI & FONSECA, 2008).

A LVC ou calazar canino é uma doença sistêmica que apresenta um amplo espectro clínico que varia de um aparente estado sadio a um estado sintomático severo e terminal. A gravidade das manifestações clínicas depende intrinsecamente do tipo de resposta imunológica expressada pelo indivíduo infectado (MELO, 2004; BRASIL, 2006; NEVES et al., 2005). De modo geral, o quadro clínico é semelhante à encontrada na Leishmaniose visceral humana, com presença de febre irregular de longo curso, palidez de mucosas e um

emagrecimento progressivo até o estado de caquexia intensa na fase terminal (MARZOCHI et al., 1985).

A LVC além de provocar lesões nos órgãos internos causa também patologias mucocutâneas (MELO, 2004). Nesta grave doença, observa-se com frequência a hipertrofia do SFM, levando a quadros de esplenomegalia, hepatomegalia e adenopatia generalizada. Os sintomas sistêmicos incluem apatia, diarreia, hemorragia intestinal, edema, vômitos, além de outros (BARCELOS, 2009)

No entanto, os sinais mais evidentes estão relacionados às alterações cutâneas e de fâneros tais como: perda de pêlos, podendo ser observadas no focinho, orelhas e extremidades; dermatite; onicogribose; opacificação da córnea (ceratite intersticial), frequentemente após uma conjuntivite purulenta (MARZOCHI et al., 1985; BARCELOS, 2009).

A LVC é principalmente uma doença rural, apresentando uma epidemiologia doméstica ou peridoméstica. Porém, recentemente, a doença foi encontrada em cidades ou nas periferias das grandes cidades, como Belo Horizonte, Montes Claros, Rio de Janeiro, Salvador e Fortaleza. No Brasil, a LV já foi notificada em 19 das 27 Unidades da Federação, com aproximadamente 1600 municípios apresentando transmissão autóctone (PALATNIK- DE - SOUSA et al., 2001; BRASIL, 2006).

Embora existam medicamentos com ação eficaz sobre os parasitos, a doença é segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), responsável pela morte de milhares de pessoas em todo o mundo principalmente crianças. A OMS estima que ocorram 500000 novos casos por ano em todo o mundo. No Brasil, dados do Ministério da Saúde relatam à ocorrência média de 3100 casos novos por ano, 54% deles em crianças menores de 10 anos (NEVES et al., 2005). O número de cães infectados na América do Sul já é estimado em milhões, com altas taxas de infecção relatadas em algumas áreas do Brasil. Vale ressaltar, que mesmo com a eliminação dos cães soropositivos, ainda se observa uma tendência de expansão da doença, principalmente nos centros urbanos (CAMARGO et al., 2007; NOGUEIRA et al., 2009). Mesmo a LV humana nem sempre obedeça a uma distribuição espacial paralela a do calazar canino, porém as infecções caninas são mais frequentes que as humanas e normalmente as precedem (AZEVEDO et al., 2008).

O diagnóstico clínico da LVC é precário e complexo, pois os sinais clínicos da doença são variáveis e inespecíficos, comuns a outras enfermidades que acometem o cão (TASCA, et al., 2009). Nenhum teste de diagnóstico da LVC apresenta 100% de sensibilidade e de especificidade e detectar o cão soropositivo removê-lo e sacrificá-lo são medidas ainda duvidosas enquanto estratégia de controle (SILVA, 2007).

A expansão da doença coloca em pauta as práticas de controle que vêm sendo utilizadas, evidenciando a necessidade de conhecer melhor a dinâmica da doença nas diferentes localidades de ocorrência no Brasil (CASTRO, 2008). O processo de expansão geográfica e urbanização da LV levam a necessidade de se estabelecer medidas mais eficazes de controle (MELO, 2004). Neste contexto, a correta identificação dos cães infectados constitui uma medida importante entre as estratégias a serem adotadas pelos atuais programas de controle a enfermidade.

3 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ALBUQUERQUE, A.R; ARAGÃO, F.R; FAUSTINO, M.A.G. et al. Aspectos clínicos de cães naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi* na região metropolitana do Recife. Revista Clínica Veterinária, v. 12, n. 71, p. 78-80, 2007.

AZEVEDO, E. M. R.; LINHARES, G. F.C.; DUARTE, S. C. et al. Leishmaniose visceral canina em cão de Caldas Novas, Goiás. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v.17, Supl. 1, p. 339-341, 2008.

BARCELOS, D. S. Aspectos clínicos e parasitários de cães infectados naturalmente por *leishmania* spp em duas áreas de transmissão intensa com diferentes características ambientais e sociais. 2009.93p. Dissertação (Mestrado)- Instituto De Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro- UFRRJ / Seropédica- RJ.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de vigilância epidemiológica em saúde. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. Brasília: Ed. MS, 2006.

CAMARGO, J.B; TRONCARELLI, M.Z; RIBEIRO, M.G. et al. Leishmaniose visceral canina: aspectos de saúde pública e controle. Clínica Veterinária, V. 12, n. 71, p. 86-92, nov/dez 2007.

CASTRO, G. N. Leishmaniose visceral humana e canina no município de Imperatriz, Maranhão, Brasil. 2008. 62f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública Veterinária). Universidade Técnica de Lisboa- Faculdade de Medicina Veterinária. Lisboa.

GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. Revista brasileira de epidemiologia, v.7, n. 3, p. 338-349, 2004.

GUERIN, P.J.; OLLIARO, P.; SUNDAR, S. et al. Visceral leishmaniasis: current status of control, diagnosis, and treatment, and a proposed research and development agenda. Lancet Infect. Dis., v.2, p.494-501, 2002.

KRAUSPENHAR, C.; BECK, C.; SPEROTTO, V. et al. Leishmaniose visceral em um canino de Cruz Alta, Rio Grande do Sul, Brasil. Ciência Rural, v.37, n.3, p. 907-910, mai-jun, 2007.

MARZOCHI, M. C. A.; COUTINHO, S. G.; SABROSA, P. C. et al. Leishmaniose visceral canina no Rio de Janeiro – Brasil. Cadernos de Saúde Pública, Rio de Janeiro, v. 1, n. 4, p. 432 – 446, out – dez.1985.

- MATTOS Jr., D.G.; PINHEIRO, J.M.; MENEZES, R.C. et al. Aspectos clínicos e de laboratório de cães soropositivos para leishmaniose. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.56, n. 1, p.119-122, 2004.
- MELO, F. A. Alterações da matriz extracelular do fígado, baço e linfonodos cervicais de cães naturalmente infectados com *Leishmania (Leishmania) chagasi*. 2008. 124f. Tese (Doutorado em Patologia). Universidade Federal De Minas Gerais. Belo Horizonte, 2008.
- MELO, M. N. Leishmaniose Visceral no Brasil: desafio e perspectivas. In: XIII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária & I Simpósio Latino Americano de Rickettsioses, Anais... Ouro Preto, MG, p. 41-45. 2004.
- NEVES, P. D.; MELO, A. L.; VITOR, R. W. A. Parasitologia humana. 11 ed. São Paulo: Atheneu, 2005.
- NOGUEIRA, J. L.; SILVA, M. V. M.; PASSOS, C. C. A importância da leishmaniose visceral canina para a saúde pública: uma zoonose reemergente. Revista Científica Eletrônica De Medicina Veterinária , n. 13, Julho de 2009.
- PALATNIK-DE-SOUSA, C. B.; SANTOS, W. R.; FRANÇA, S. J. C. et al. Impact of canine control on the epidemiology of canine and human visceral leishmaniasis in Brazil. American Journal Tropical Medicine and Hygiene, v. 65, n. 5, p.510-517, 2001.
- REY, L. Parasitologia. 2^a ed. , Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991.
- ROMANOWSKI, T. N. A.; FONSECA, Y.I.N. Leishmaniose visceral canina. 2008. 40f. TCC (Especialização Lato Sensu em Clínica Médica e Cirúrgica de Pequenos Animais). Universidade Castelo Branco, Goiânia.
- SANTOS, S. O. Padronização De Métodos Para Análise Da Resposta Imune Órgão Específica Do Baço De Cães: Uma Contribuição Ao Estudo Da Leishmaniose Visceral Canina. 2008.101f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Federal Da Bahia. Salvador, Bahia.
- SILVA, F. S. Patologia e patogênese da leishmaniose visceral canina. Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas, v. 1, n. 1, p. 20, 2007.
- TASCA, K.I.; BUZETTI, W. A. S.; TENÓRIO, M. S. et al. Exames parasitológicos, imunoistoquímicos e histopatológicos para detecção de *Leishmania chagasi* em tecidos esplênicos de cães com leishmaniose visceral. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, Jaboticabal, v. 18, n. 1, p. 27-33, 2009.

CAPÍTULO 1

ANÁLISE MACROSCÓPICA DE FÍGADO E BAÇO DE CÃES ACOMETIDOS POR LEISHMANIOSE VISCERAL

MACROSCOPIC ANALYSIS OF LIVER AND SPLEEN OF DOGS AFFECTED BY VISCERAL LEISHMANIASIS

RESUMO

A leishmaniose visceral (LV) é considerada o tipo mais grave dentre as leishmanioses. O agente etiológico envolvido nesta enfermidade é a *Leishmania (Leishmania) chagasi*, transmitido de um hospedeiro vertebrado a outro por meio do inseto *Lutzomyia longipalpis*. Os cães os principais reservatórios urbanos e considerados um importante elo na cadeia de transmissão da LV. O objetivo deste trabalho foi verificar as alterações morfológicas do baço e do fígado em caninos acometidos por LV. Esse trabalho foi realizado no Centro de Controle de Zoonoses (CCZ), do município de João Pessoa-PB. Foram avaliados 30 caninos, destes 25 com característica “reagente” para reação de imunofluorescência indireta e cinco “não reagente”. Os animais foram agrupados em três grupos: reagentes sintomáticos (n=12), reagentes assintomáticos (n=13) e grupo controle (05). Na avaliação clínica dos animais, a ceratoconjuntivite e onicogribose foram os sinais mais frequentes nos infectados. Congestão hepática e esplênica foram aspectos comumente encontrados. O peso do fígado (g), seu peso relativo e o escore corporal nestes animais foram significativamente maiores comparados aos demais grupos. Em conclusão, as alterações hepatoesplênicas macroscópicas apresentadas pelos animais com LV são diversas, assim como os sinais clínicos avaliados superficialmente.

Palavras- chave: Cães; Calazar; Leishmaniose visceral.

ABSTRACT

The Visceral Leishmaniasis (VL) is considered the most serious kind of Leishmaniasis. The etiological agent in this disease is the *Leishmania (Leishmania) chagasi*, transmitted from a vertebrate host to another through of the *Lutzomyia longipalpis* vector. The dogs are the principal urban reservoir and considered an important link in cycle of VL transmission. The aim of this study was to examine the morphological changes of the spleen and liver in dogs affected by VL. The study was conducted in Zoonoses Control Center (ZCC) in the city of João Pessoa-PB. Were evaluated 30 dogs, 25 of these with reagent characteristics for indirect immunofluorescence and five non-reagent. The animals were divided into three groups: symptomatic reagents (n=12), asymptomatic reagents (13) and control (n=05). The most frequent clinical manifestations in infected animals were the keratoconjunctivitis and onychogryphosis. Hepatic and splenic congestion were aspects commonly found in symptomatic animals. Liver weight (g), their relative weight and body score in these animals was significantly higher compared to other groups. In conclusion, the macroscopic hematosplenic modifications presented by animals with VL are diverse, as well as the clinical signs superficially evaluated.

Keywords: Dogs; Kalazar; Visceral Leishmaniasis.

INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral canina (LVC) ou calazar é uma enfermidade infecciosa ocasionada por protozoários do gênero *leishmania*, que tem o cão como principal reservatório urbano (AZEVEDO et al., 2008). A leishmaniose pode se expressar de duas formas: a cutânea e a visceral, sendo que, a maioria dos cães desenvolve a forma visceral ou sistêmica embora 90% também apresentem comprometimento cutâneo (TILLEY & SMITH, 2003).

As *Leishmania* sp., podem acometer diversos mamíferos entretanto, com a urbanização das leishmanioses, o cão adquiriu grande importância como reservatório da leishmaniose visceral (LV) no ambiente doméstico devido a convivência estreita com o homem, elevada ocorrência de infecções inaparentes e intenso parasitismo cutâneo (ALMEIDA, 2009).

No Brasil o agente etiológico responsável pelas formas clínicas da leishmaniose visceral é a espécie *Leishmania (Leishmania) chagasi*, cuja transmissão aos animais susceptíveis e humanos ocorre por meio da picada de fêmeas infectadas pertencentes à espécie *Lutzomyia longipalpis* (GONTIJO & MELO, 2004; NEVES et. al., 2005; BRASIL, 2006; SANTOS, 2008; TASCA et. al., 2009).

Esses protozoários vivem alternadamente em dois hospedeiros: um vertebrado e outro invertebrado que atua como vetor. Nos primeiros a *leishmania* é parasita intracelular obrigatório das células do sistema fagocitário mononuclear (SFM) provocando alterações histopatológicas predominantemente nos órgãos do sistema imunitário e do fígado. (ROMANOWSKI & FONSECA, 2008).

Os parasitas quando são inoculados na pele do hospedeiro pelos flebótomos, invadem os macrófagos e no seu interior se multiplicam intensamente por divisão binária causando o rompimento da célula e conseqüentemente a liberação das formas amastigotas, que são fagocitadas por novos macrófagos. Dependendo da resposta do hospedeiro, o parasito pode se disseminar nos macrófagos para outros órgãos, como baço, medula óssea, fígado, causando uma infecção crônica. (MELO, 2004)

Dentre as células do SFM, os macrófagos, são os principais “alvos” desses protozoários, logo, os órgãos que possuem grandes quantidades desses tipos celulares (fígado, baço, medula-óssea, pele e linfonodos) são os mais atingidos (LIMA, 2007). Os parasitos podem ser encontrados no fígado, baço, linfonodos e medula óssea, onde os macrófagos

abrigam grandes quantidades de formas amastigotas, resultando no alargamento e mau funcionamento dos órgãos, o que geralmente deixa seqüelas (POCAI et al., 1998). A hipertrofia do SFM originando esplenomegalia, hepatomegalia e adenopatia generalizada, são bastante frequentes (BARCELOS, 2009).

As espécies de *L. (L.) chagasi* são conhecidas como causadoras da forma visceral em seres humanos e em cães, porém os cães além de manifestarem a forma visceral podem também desenvolver vários tipos diferentes de lesões cutâneas, (MELO, 2008) como onicogribose, dermatites, úlceras dérmicas, alopecia localizada ou perda total de pêlos, linfadenomegalia, emagrecimento e/ou perda de peso levando ao estado de caquexia, (RIBEIRO, 2005; CASTRO, 2008).

O calazar canino é uma doença que apresenta um amplo espectro clínico, o que na maioria das vezes dificulta seu diagnóstico, pois os sinais clínicos da doença são variáveis e inespecíficos, comuns a outras enfermidades que acometem o cão e dependendo da fase da doença e das condições imunológicas, muitos cães infectados apresentam-se assintomáticos (GONTIJO & MELO, 2004; TASCA et al., 2009) no entanto, mesmo nestas condições esses animais podem ser fonte de infecção para os flebotomíneos e conseqüentemente podem ter papel ativo na transmissão da *Leishmania* (PALATNICK - DE - SOUZA et al., 2001; MELO, 2004).

No Brasil, a LVC coexiste com a doença humana em todos os focos conhecidos, porém a infecção canina é mais prevalente e geralmente precede a doença humana, pois o controle dessa zoonose ainda enfrenta grandes barreiras, não só relacionadas à disponibilidade de drogas curativas, mas, também relativa ao controle dos reservatórios, movimentação de populações, urbanização desordenada, dentre outros fatores (BARCELOS, 2009).

O objetivo deste trabalho foi verificar as alterações morfológicas de fígado e baço em caninos acometidos por LVC.

MATERIAIS E MÉTODOS

A coleta do material cadavérico foi realizada no Centro de Controle de Zoonoses – CCZ da Secretaria de Saúde do Município de João Pessoa- PB, Brasil, com autorização prévia do órgão, com protocolo de nº 0.7842/2011(anexo I) e com a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa – CEP da UFCG, com protocolo de nº46-2011 (anexo II).

Foram avaliados trinta (30) cães recém sacrificados pelo CCZ, todos previamente submetidos ao exame sorológico de Reação de Imunofluorescência Indireta – RIFI, realizado no próprio órgão. Destes, vinte e cinco (25) apresentavam diagnóstico positivo para leishmaniose visceral canina (LVC).

Os animais foram divididos em três grupos distintos para a coleta dos dados, 1 - animais positivos para a LVC sintomáticos, 2 - animais positivos para a LVC assintomáticos e 3 - animais do grupo controle, ou seja, negativos para a LVC. Para classificação em sintomáticos e assintomáticos, foram observadas a presença ou ausência de alguns aspectos clínicos comuns em cães portadores de LVC, como alterações cutâneas, ceratoconjuntivite, apatia, caquexia, entre outras, obedecendo à classificação do Ministério da Saúde (2006).

Posteriormente, os cães foram submetidos à eutanásia pelo Centro de Controle de Zoonoses (CCZ), obedecendo ao Decreto nº 51.838 do Ministério da Saúde do Brasil, de 14 de março de 1963, o qual estabelece que animais domésticos portadores de leishmaniose devam ser eutanasiados. Os animais que não apresentavam diagnóstico positivo para a LVC, utilizados como grupo controle, foram sacrificados por motivos já previstos e realizado no CCZ.

O procedimento eutanásico foi realizado exclusivamente pelo corpo técnico e veterinário do próprio CCZ, seguindo a Resolução nº 714, de 20 de junho de 2002, do Conselho Federal de Medicina Veterinária, que dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia de animais.

Confirmado o óbito dos animais, foram coletados os seguintes dados: sexo, peso, porte, raça e o escore corporal. Este classificado em: (1) extremamente magro, (2) magro, (3) ideal/moderado, (4) gordo/ sobrepeso e (5) obeso, de acordo com a metodologia de Hand et al. (2000). O porte foi classificado em pequeno (para animais com peso igual ou inferior a 9 kg), médio (para os animais entre 9,5kg e 23 kg), grande (para aqueles com peso entre 23,5kg

e 40 kg) e gigante (para animais com mais de 40,5kg) de acordo com a classificação proposta por Goldston & Hoskins (1999).

Após as medidas corporais, foi realizada a necropsia para a remoção do baço e do fígado e posterior análise macroscópica como tamanho, peso, coloração, textura e presença de lesões superficiais. O peso foi obtido com auxílio de uma balança de precisão (1g) e as dimensões de comprimento e largura foram estimadas por meio de fita métrica. A coloração dos órgãos estudados foi definida com base na presença ou ausência de patologias, como:

- * Baço normal – definido pela coloração vermelha- escura.
- * Baço anêmico – definido pela coloração variando de roxo pálido a rosa claro com ausência de hemorragias e patologias aparentes.
- * Baço anêmicohemorrágico- definido pela coloração variando de roxo pálido a rosa claro, com hemorragias distribuídas no parênquima.
- *Baço congesto-hemorrágico (hiperêmico-hemorrágico) – definido pela presença de hemorragias distribuídas no parênquima apresentando congestão ao corte, com discreto escurecimento do órgão (friável ao corte).
- * Fígado anêmico – definido pela coloração variando de vermelho pálido à amarronzada;
- * Fígado normal – definido pela coloração vermelha- escura;
- * Fígado congesto (hiperêmico) – definido pela coloração vermelha enegrecido apresentando congestão ao corte (com alterações superficiais ao toque).

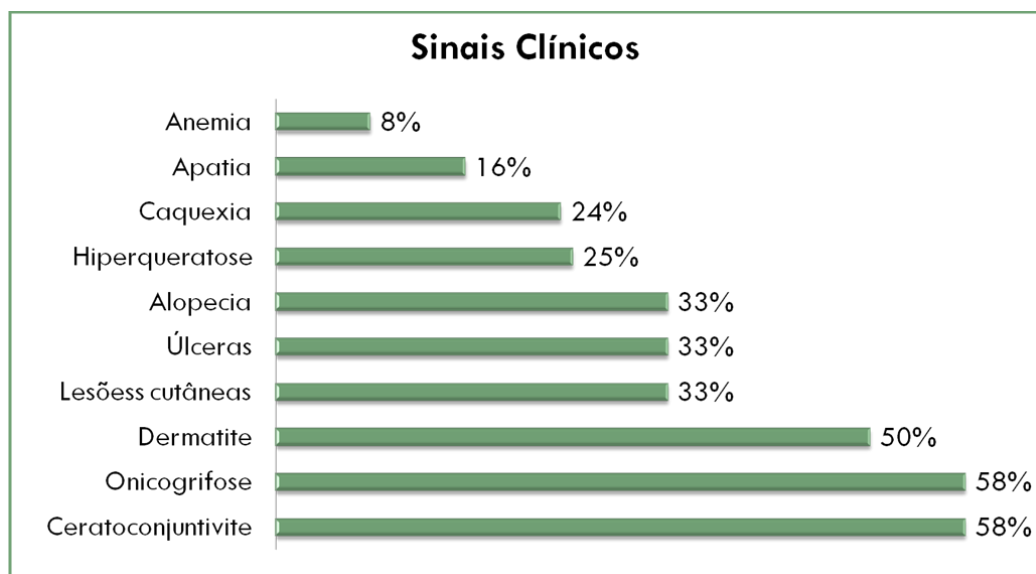
A necrópsia foi realizada na sala de eutanásia e necrópsia do CCZ e com uso de material cirúrgico previamente esterilizado e todos os equipamentos de proteção individual para evitar contaminação. As análises estatísticas realizadas foram a ANOVA ou teste F e o teste *t* de *Student*, considerando o nível de significância de 5%, utilizando para este fim o programa Bioestat 5.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisados animais com diferentes portes, escore corporal e raças, embora a maioria não apresentasse raça definida e pertencesse ao sexo masculino. Dentre os 25 animais com sorologia positiva para leishmaniose, 52% foram classificados como assintomáticos e 48% como sintomáticos. Quanto ao porte dos animais, prevaleceu o porte médio para os três grupos estudados, sintomáticos, assintomáticos e controle, com 58%, 69%, e 80% respectivamente, dados estes esperados, uma vez que a maioria dos espécimes trabalhados eram animais errantes e entre estes, a presença de animais de médio porte foi dominante. No entanto, Melo (2004) estudando a LVC no Brasil não evidenciou predisposição sexual, racial ou de faixa etária relacionada com a infecção, contudo, acredita-se que as raças de pequeno porte são menos afetadas, por viverem dentro dos domicílios. Essa crença provavelmente não encontra subsídios uma vez que a infecção é transmitida por um mosquito do gênero *Lutzomyia* que apresenta adaptações domésticas e, portanto, pode habitar as moradias.

A figura 1 mostra que a avaliação clínica de superfície dos animais sintomáticos demonstrou que a ceratoconjuntivite e onicogrifose foram os sinais mais presentes nos infectados, ambos com 58%, seguidos por dermatites em 50% dos animais avaliados. Estes resultados foram semelhantes aos obtidos por Azevedo et al. (2008), Dias et al. (2008) e Thomaz-Soccol et al. (2009) em diversos estudos.

Figura 1: As manifestações clínicas encontradas nos animais infectados e sintomáticos com LVC.



De acordo com Marzochi et al. (1985), o crescimento exagerado das unhas (onicogrifose) é comum devido à apatia que o cão apresenta quando infectado pela Leishmaniose. Neste estado, segundo o autor, ele não demonstra qualquer disposição para que ocorra o desgaste natural das unhas e isso resulta no crescimento anormal das mesmas. Por outro lado Feitosa (2006) argumenta que a onicogrifose está associada à presença do parasito estimulando a matriz ungueal. Silva et al. (2010) salientam que a apatia pode ser provocada em função da presença de dores articulares nos animais acometidos ou até mesmo pela anemia.

A análise cadavérica demonstrou que 75% apresentaram fígados normais, 16,6% fígados anêmicos e 8,3% com um quadro de congestão ou hiperemia, corroborando com os resultados de Melo (2008) e Pimentel et. al. (2008). Para Rallis et al. (2005) o aumento da circulação e conseqüentemente, a congestão hepática se dá devido aos processos inflamatórios alojados no órgão em virtude da infecção.

No estudo esplênico verificou-se que 16,6% apresentavam-se normais, 16,6% anêmicos com hemorragias, 33,3% exclusivamente anêmico e 33,3% congestos com hemorragias. Resultados semelhantes foram obtidos por Pimentel et al. (2008). A presença de rugas na superfície do órgão também foi um achado comum, sendo estas associadas a outros sinais como congestão e hemorragia. Tafuri et al. (1989) encontrou congestão hepática e esplênica em animais naturalmente e experimentalmente infectados por LVC . A congestão ou hiperemia é um quadro frequente e se caracteriza pela presença de sangue à superfície de corte (LIMA, 2007; MELO, 2008).

Dentro do grupo dos assintomáticos, 93% apresentaram fígados normais e 7% apresentou quadro de congestão (hiperemia) hepática. Com relação aos baços, 46% apresentaram-se normais, 23% apresentaram baços anêmicos e com hemorragias, 23% com congestão e hemorragias e 7% quadro anêmico. Tasca et al. (2009) analisando tecidos esplênicos de cães com LVC encontrou extensas áreas hemorrágicas e Barros (2011) presença de congestão. Ambas as patologias foram encontrados tanto para grupos sintomáticos quanto para assintomáticos.

Neste contexto, dos 25 animais com sorologia positiva para a LVC, observou-se na análise que 16% apresentaram alterações hepáticas e 68% apresentaram alterações esplênicas. Para Feitosa (2006) a ocorrência de hemorragias pode ter diversas causas incluindo vasculite,

hiperglobulinemia, que pode interferir com a polimerização da fibrina, uremia, que interfere com a função plaquetária e seqüestro esplênico de plaquetas.

As análises estatísticas evidenciaram que o peso do fígado apresentou diferença significativa entre os grupos (ANOVA - $F=4,1$; $gl=2$; $p=0,03$). Posteriormente, foi verificado que a diferença ocorreu entre o grupo sintomático e assintomático (t -Student - $t=2,1$; $gl=23$; $p=0,04$) e entre sintomático e controle com o (t -Student - $t=2,6$; $gl=15$; $p=0,01$). Já entre o grupo assintomático e controle não foi encontrado diferença significativa (t -Student - $t=1,0$; $gl=15$; $p>0,05$) (Tab.1).

Tabela 1 - Peso dos fígados dos animais dos grupos, sintomáticos, assintomáticos naturalmente infectados com *L. chagasi* e grupo controle.

Grupos	Peso (g) (média+DP)
Sintomático	716,2 ± 328,5
Assintomático	500,2 ± 188,6
Controle	362,4 ± 197,3

A relação peso do fígado/peso do animal também apresentou diferença significativa entre os grupos, através do teste ANOVA ($F=4,7$; $gl=2$; $p=0,03$). Assim, ficou demonstrado pelo teste t -Student, que as diferenças ocorreram apenas entre o grupo sintomático e assintomático ($t=2,9$; $gl=23$; $p=0,007$) (Tab. 2). Resultados semelhantes foram encontrados por Melo (2008). Esses resultados apontam à presença de hepatomegalia encontrada em animais com LVC, já que tanto o peso do órgão, quanto a relação peso do órgão/peso do animal, mostrou diferenças significativas. Essa patologia foi verificada principalmente no grupo dos sintomáticos.

Tabela 2 - Peso relativo (peso do fígado/peso corporal) dos fígados dos animais dos grupos, sintomáticos, assintomáticos naturalmente infectados com *L. chagasi* e grupo controle.

Grupos	Peso relativo % (média+DP)
Sintomático	4,75 ± 1,10
Assintomático	3,40 ± 0,88
Controle	3,52 ± 1,84

Com relação ao peso do animal e o peso do baço/peso do animal, não houve diferença significativa (ANOVA - $F=0,72$; $gl=2$; $p=0,50$ e $F=2,41$; $gl=2$; $p=0,11$; respectivamente), Estes dados discordam dos resultados de Melo (2008) que encontrou diferenças significativas dos pesos relativos dos baços dos grupos, sintomáticos e assintomáticos, quando comparados ao controle. Assim como, para mensurações comprimento e largura de fígado e baço e o peso do baço(g) também não apresentaram diferenças estatísticas entre os grupos.

Os dados de escore corporal (EC), que dimensiona o quão gordo ou magro está o animal, apresentou diferença significativa entre os grupos (ANOVA - $F=8,3$; $gl=2$; $p=0,001$), com isso fez-se o teste a posteriori, para verificar onde está a diferença, demonstrando que a diferença significativa está apenas entre o grupo sintomático e assintomático ($t=4,1$; $gl=23$; $p<0,001$). Não houve diferença entre os animais do grupo assintomáticos e controle, nem entre os grupos sintomáticos e controle ($t=1,59$; $gl=15$; $p>0,05$ e $t=1,48$; $gl=15$; $p>0,05$; respectivamente) (Tab. 3).

Tabela 3 - Escore corporal (EC) dos animais dos grupos, sintomáticos, assintomáticos naturalmente infectados com *L. chagasi* e grupo controle.

Grupos	EC(média+DP)
Sintomático	2,42 ± 0,63
Assintomático	3,34 ± 0,59
Controle	2,90 ± 0,22

Tais resultados relatam o aspecto debilitante dos animais, principalmente os sintomáticos, acometidos por LVC. Feitosa (2006) descreve que a emaciação é geralmente um sinal de envolvimento visceral, aspecto presente nesse estudo e demonstrado por Santana et al. (2008), que observaram associações entre as alterações morfológicas no baço e o emagrecimento, mostraram que a desorganização do tecido linfóide esplênico foi mais frequente em animais magros, associando perda de peso com a desorganização da estrutura de polpa branca, onde 70% dos animais com emagrecimento apresentaram algum grau de desorganização da polpa branca.

Silva et al. (2010), verificaram que o emagrecimento foi um dos sinais clínicos mais observados nos animais examinados, encontrando significância estatística entre sorologia positiva e o estado nutricional caquético dos animais, sinalizando o estado de cronicidade da

doença que pode ser explicado pelo processo de infiltração parasitária que compromete o aparelho digestivo.

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados é possível concluir que, as alterações hepatoesplênicas macroscópicas apresentadas pelos animais com LVC são diversas, assim como os sinais clínicos avaliados superficialmente. Com isso, foi possível verificar que mesmo os animais sem nenhuma sintomatologia aparente (assintomáticos) apresentaram comprometimento visceral. Além disso, o baço apesar de não ter mostrado diferenças estatísticas foi o órgão dentro dos grupos sintomáticos e assintomáticos que apresentou mais injúrias superficiais, como hemorragias, congestão e anemia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ALMEIDA, A. B. P. F. Inquérito soroepidemiológico e caracterização da leishmaniose canina por PCR-RFLP em Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. 2009. 67f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2009.

AZEVEDO, E. M. R.; LINHARES, G. F.C.; DUARTE, S. C. et al. Leishmaniose visceral canina em cão de Caldas Novas, Goiás. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 17, Supl. 1, p. 339-341, 2008.

BARCELOS, D. S. Aspectos clínicos e parasitários de cães infectados naturalmente por *leishmania* spp em duas áreas de transmissão intensa com diferentes características ambientais e sociais. 2009. 93f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro-UFRRJ / Seropédica- RJ.

BARROS, R. M. Caracterização histopatológica da leishmaniose visceral canina no Distrito Federal. 2011. 116f. Dissertação (Mestrado em Saúde Animal). Universidade de Brasília – Faculdade de agronomia e medicina veterinária- Brasília- DF.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA EM SAÚDE, Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. Brasília: Ed. MS, 2006.

CASTRO, G. N. Leishmaniose visceral humana e canina no município de Imperatriz, Maranhão, Brasil. 2008. 62f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública Veterinária). Universidade Técnica de Lisboa- Faculdade de Medicina Veterinária. Lisboa.

DIAS, E. L.; BATISTA, Z. S.; CANDANEDO, R.M.S.N. et al. Canine Visceral Leishmaniasis (CVL): seroprevalence, clinical, hematological and biochemical findings of dogs naturally infected in an endemic area of São José De Ribamar Municipality, Maranhão state, Brazil. Revista Ciência Animal Brasileira, v. 9, n. 3, p. 740-745, jul./set. 2008

FEITOSA, M.M. Avaliação Clínica De Animais Naturalmente Infectados. In: 1º Fórum Sobre Leishmaniose Visceral Canina, 2006, Jaboticabal. Anais... Jaboticabal: UEP, 2006. p. 9-14.

GOLDSTON, R.T.; HOSKINS, J.D. Geriatria e gerontologia do cão e do gato. São Paulo: Roca, 1999. 551p.

GONTIJO, C.M.F.; MELO, M.N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. Revista brasileira de epidemiologia, v.7, n.3, p. 338-349, 2004.

HAND, M. S.; THATCHER, C. D.; REMILLARD, R. L. et al. Small animal clinical nutrition. 4. ed. Topeka: Mark Morris Institute, 2000.

LIMA, W. G. Leishmaniose visceral canina: estudo quantitativo e comparativo da expressão do receptor do complemento do tipo 3 (cr3 – cd11b/cd18) com alguns aspectos histológicos e parasitológicos do baço, fígado e linfonodos de cães naturalmente infectados com *Leishmania (Leishmania) chagasi*. 2007. 111f. Tese (Doutorado em patologia geral). Universidade Federal de Minas Gerais. Belo horizonte.

MARZOCHI, M. C. de A.; COUTINHO, S. G.; SABROSA, P. C. et al. Leishmaniose visceral canina no Rio de Janeiro – Brasil. Cadernos de Saúde Pública, vol. 1, n. 4, p. 432 – 446, 1985.

MELO, F. A. Alterações da matriz extracelular do fígado, baço e linfonodos cervicais de cães naturalmente infectados com *Leishmania (Leishmania) chagasi*. 2008. 124f. Tese (Doutorado em Patologia). Universidade Federal De Minas Gerais. Belo Horizonte, 2008.

MELO, M. N. Leishmaniose Visceral no Brasil: desafio e perspectivas. In: XIII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária & I Simpósio Latino Americano de Rickettsioses, Anais... Ouro Preto, 2004. p. 41-45.

NEVES, P. D.; MELO, A. L.; VITOR, R. W. A. Parasitologia humana. 11 ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

PALATNIK-DE-SOUSA, C. B.; SANTOS, W. R.; FRANÇA-SILVA, J. C. et al.. Impact of canine control on the epidemiology of canine and human visceral leishmaniasis in Brazil. American Journal Tropical Medicine and Hygiene, v. 65, n. 5, p.510-517, 2001.

PIMENTEL, D. S.; ALBUQUERQUE, E. R. C.; FAUSTINO, M. A. G. et al. Alterações estruturais hepáticas e esplênicas em cães (*Canis familiaris*, Linnaeus, 1758) naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi* (Cunha e Chagas, 1937). Medicina Veterinária, Recife, v.2, n.2, p.23-27, abr-jun, 2008.

POCAI, E.A.; FROZZA, L.; HEADLEY, S. A. et al. Leishmaniose visceral (calazar). Cinco casos em cães de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. Ciência Rural, v.28, n.3, p.501-505, 1998.

RALLIS, T.; DAY, M.J.; SARIDOMICHELAKIS, M.N. et al. Chronic hepatitis associated with canine leishmaniasis (*Leishmana infantum*): a clinicopathological study of 26 cases. Journal of Comparative Pathology. V. 132, p. 145-152, 2005.

RIBEIRO, V. M. Leishmaniose visceral canina: nossos cães devem morrer?
Revista Cães & Gatos. V.17, n.103, p. 66-70, 2005.

ROMANOWSKI, T. N. A.; FONSECA, Y.I.N. Leishmaniose visceral canina. 2008. 40f. TCC (Especialização *Latu Sensu* em Clínica Médica e Cirúrgica de Pequenos Animais).
Universidade Castelo Branco, Goiânia.

SANTANA, C. C.; VASSALLO, J.; DE FREITAS, L. A. R. et al. Inflammation and structural changes of splenic lymphoid tissue in visceral leishmaniasis: A study on naturally infected dogs. *Parasite Immunology*, v. 30, p.515 –524, 2008.

SANTOS, S. O. Padronização De Métodos Para Análise Da Resposta Imune Órgão Específica Do Baço De Cães: Uma Contribuição Ao Estudo Da Leishmaniose Visceral Canina. 2008.101f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Federal Da Bahia. Salvador, Bahia.

SILVA, F. T. S.; SANTOS, J. T.; NETTO, E. M. et al. Aspectos clínicos da leishmaniose visceral canina no Distrito de Monte Gordo, Camaçari (BA). *Revista Baiana de Saúde Pública*. v.34, n.4, p.783-795 out./dez. 2010.

TAFURI, W. L.; MICHALICK, M. S. M.; DIAS, M. et al. Estudo, ao microscópio óptico e eletrônico, do rim de cães natural e experimentalmente infectados com *Leishmania (Leishmania) chagasi*. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, v. 31, p. 139-145, 1989.

TASCA, K.I.; BUZETTI, W. A. S.; TENÓRIO, M. S. et al. Exames parasitológicos, imunoistoquímicos e histopatológicos para detecção de *Leishmania chagasi* em tecidos esplênicos de cães com leishmaniose visceral. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Jaboticabal, v. 18, n. 1, p. 27-33, 2009.

TILLEY, P. L.; SMITH. F. W. K. J. *Consulta Veterinária em 5 minutos*. 2ª ed. São Paulo: Manole, 2003, p 892.

THOMAZ-SOCCOL, V.; CASTRO, E. A.; NAVARRO, I. T. et al. Casos alóctones de leishmaniose visceral canina no Paraná, Brasil: implicações epidemiológicas. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Jaboticabal, v. 18, p. 46-51, jul./set. 2009.

ANEXO I



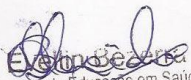
Prefeitura Municipal de João Pessoa
Secretaria de Saúde

João Pessoa, 26 de maio de 2011.

ENCAMINHAMENTO

Cumprimentando-os cordialmente, encaminhamos a pesquisadora **MARIA RAILMA VIEIRA DE FREITAS**, para a realização de coleta de dados da pesquisa intitulada **“ANÁLISE MACROSCÓPICA DAS PRINCIPAIS VÍSCERAS ACOMETIDAS POR LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA”**, a ser realizada no **Centro de Controle de Zoonoses**, processo nº0.7842/2011.

Sem mais, e visando o bom andamento das pesquisas na Rede SUS de João Pessoa, subscrevo-me,

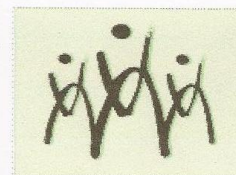

Gerente de Educação em Saúde
Matrícula 52.284-8
Atenciosamente,

Evellin Bezerra
Gerente de Educação na Saúde

ANEXO II



Universidade Federal de Campina Grande
Centro de Saúde e Tecnologia Rural
Comissão de Ética em Pesquisa
Av. Sta Cecília, s/n, Bairro Jatobá, Rodovia Patos,
CEP: 58700-970, Cx postal 64, Tel. (83) 3511-3045



A: Sr^a Maria Railma Vieira de Freitas (Executora)

Sr^a Freitas;

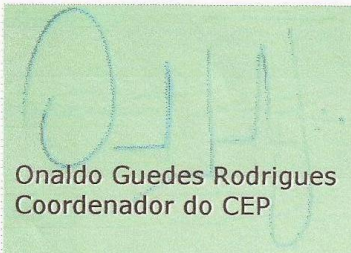
Protocolo CEP nº 46-2011

CERTIDÃO

ASSUNTO: Solicitação de aprovação do projeto de pesquisa intitulado "Análise macroscópica das principais vísceras acometidas por Leishmaniose Visceral Canina".

Cientificamos a V.Sa. que seu projeto teve parecer consubstanciado orientado pelo regulamento interno deste comitê e foi aprovado em reunião extraordinária nº 04/2011, estando à luz das normas e regulamentos vigentes no país atendidas as especificações para a pesquisa científica.

Secretaria do Comitê de ética em Pesquisa – CEP da UFCG
Patos, 14 de novembro de 2011.



Onaldo Guedes Rodrigues
Coordenador do CEP

Pedimos encaminhar resposta com a maior brevidade ao CEP

ANEXO III

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia
(Brazilian Journal of Veterinary and Animal Sciences)**Política Editorial**

O periódico *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science)*, ISSN 0102-0935 (impresso) e 1678-4162 (on-line), é editado pela FEPMVZ Editora, CNPJ: 16.629.388/0001-24, e destina-se à publicação de trabalhos científicos sobre temas de medicina veterinária, zootecnia, tecnologia e inspeção de produtos de origem animal e áreas afins.

Os trabalhos encaminhados para publicação são submetidos à aprovação do Corpo Editorial, com assessoria de especialistas da área (relatores). Os trabalhos cujos textos necessitem de revisões ou correções serão devolvidos aos autores. Os aceitos para publicação tornam-se propriedade do *Arg. Bras. Med. Vet. Zootec.* Os autores são responsáveis pelos conceitos e informações neles contidos. São imprescindíveis originalidade, ineditismo e destinação exclusiva à Revista.

Reprodução de artigos publicados: A reprodução de qualquer artigo publicado é permitida desde que seja corretamente referenciado. Não é permitido o uso comercial dos resultados.

A submissão dos trabalhos é feita exclusivamente on-line, no endereço eletrônico <www.abmvz.org.br>.

Tipos de artigos aceitos para publicação

Artigo científico. É o relato completo de um trabalho experimental. Baseia-se na premissa de que os resultados são posteriores ao planejamento da pesquisa. Seções do texto: Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão e Conclusões. O número total de páginas não deve exceder a 15.

Relato de caso. Contempla principalmente as áreas médicas, em que o resultado é anterior ao interesse de sua divulgação ou a ocorrência dos resultados não é planejada. Seções do texto: Introdução, Casuística, Discussão e Conclusões (quando pertinentes). O número total de páginas não deve exceder a 10.

Comunicação. É o relato sucinto de resultados parciais de um trabalho experimental, dignos de publicação, embora insuficientes ou inconsistentes para constituírem um artigo científico. Levantamentos de dados (ocorrência, diagnósticos, etc.) também se enquadram aqui. Deve ser compacto, com no máximo seis páginas impressas, sem distinção das seções do texto especificadas para "Artigo científico", embora seguindo aquela ordem. Quando a comunicação for redigida em português deve conter um "Abstract" e quando redigida em inglês deve conter um "Resumo".

Preparação dos manuscritos para publicação

Os trabalhos devem ser redigidos em português ou inglês, na forma impressa. Para ortografia em inglês recomenda-se o *Webster's Third New International Dictionary*. Para ortografia em português adota-se o *Vocabulário Ortográfico da Língua Portuguesa*, da Academia Brasileira de Letras. Os

trabalhos submetidos em inglês deverão conter resumo em português e vice-versa.

Os trabalhos e ilustrações deverão ser apresentados em Microsoft Word, folha no formato A4, fonte Times New Roman tamanho 12, espaçamento entre linhas 1,5, margens de 3cm, com páginas e linhas numeradas (numeração contínua).

Seções de um trabalho

Título. Em português e em inglês. Deve ser o resumo do resumo e não ultrapassar 100 dígitos.

Autores. Os nomes dos autores virão abaixo do título, com identificação da instituição a que pertencem. Deve estar indicado o autor para correspondência com endereço completo, telefone, fax e e-mail.

Resumo e Abstract. Devem conter no máximo 200 palavras em um só parágrafo. Não repetir o título. Cada frase é uma informação. Atenção especial às conclusões.

Palavras-chave e Keywords. No máximo cinco.

Introdução. Explicação concisa, na qual são estabelecidos brevemente o problema, sua pertinência, relevância e os objetivos do trabalho.

Material e Métodos. Citar o desenho experimental, o material envolvido, a descrição dos métodos usados ou referenciar corretamente os métodos já publicados. Não usar subtítulos.

Nos trabalhos que envolvam animais ou organismos geneticamente modificados deverá constar o número do protocolo de aprovação do Comitê de Bioética e/ou de Biossegurança.

Resultados. Apresentar clara e objetivamente os principais resultados encontrados.

Discussão. Discutir somente os resultados obtidos no trabalho.

Obs.: As seções Resultados e Discussão poderão ser apresentadas em conjunto.

Conclusões. As conclusões devem estar apoiadas nos dados da pesquisa executada.

Ilustrações. São tabelas e figuras. Toda ilustração que já tenha sido publicada deve conter, abaixo da legenda, dados sobre a fonte (autor, data) e a correspondente referência deve figurar na lista bibliográfica final.

Tabela. Conjunto de dados alfanuméricos ordenados em linhas e colunas. Usar linhas horizontais na separação do cabeçalho e no final da tabela. A legenda recebe inicialmente a palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismo arábico e é referida no texto como Tab., mesmo quando se referir a várias tabelas.

Figura. Qualquer ilustração constituída ou que apresente linhas e pontos: desenho, fotografia, gráfico, fluxograma,

caquema etc. As legendas recebem inicialmente a palavra Figura, seguida do número de ordem em algarismo arábico e é referida no texto como Fig., mesmo se referir a mais de uma figura. As figuras devem ser enviadas em arquivo separado, extensão .jpg.

Agradecimentos. Devem ser concisamente expressados.

Referências bibliográficas. As referências devem ser relacionadas em ordem alfabética.

Citações bibliográficas

Citações no texto deverão ser feitas de acordo com ABNT/NBR 10520 de 2002. A indicação da fonte entre parênteses sucede à citação para evitar interrupção na sequência do texto, conforme exemplos:

- autoria única: (Silva, 1971) ou Silva (1971); (Anúário..., 1987/88) ou Anúário... (1987/88)
- dois autores: (Lopes e Moreno, 1974) ou Lopes e Moreno (1974)
- mais de dois autores: (Ferguson et al., 1979) ou Ferguson et al. (1979)
- mais de um trabalho citado: Dunne (1967); Silva (1971); Ferguson et al. (1979) ou (Dunne, 1967; Silva, 1971; Ferguson et al., 1979), sempre em ordem cronológica ascendente e alfabética de autores para trabalhos do mesmo ano.

Citação de citação. Todo esforço deve ser empreendido para se consultar o documento original. Em situações excepcionais pode-se reproduzir a informação já citada por outros autores. No texto, citar o sobrenome do autor do documento não consultado com o ano de publicação, seguido da expressão **citado por** e o sobrenome do autor e ano do documento consultado. Na listagem de referência, deve-se incluir apenas a fonte consultada.

Comunicação pessoal. Não fazem parte da lista de referências. Na citação coloca-se o sobrenome do autor, a data da comunicação, nome da Instituição à qual o autor é vinculado.

Referências bibliográficas

São adotadas as normas ABNT/NBR-6023 de 2002, simplificadas conforme exemplos:

Periódicos

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL, v.48, p.351, 1987-88.

FERGUSON, J.A.; REEVES, W.C.; HARDY, J.L. Studies on immunity to alphaviruses in foals. *Am. J. Vet. Res.*, v.40, p.5-10, 1979.

HOLENWEGER, J.A.; TAGLE, R.; WASERMAN, A. et al. Anestesia general del canino. *Not. Med. Vet.*, n.1, p.13-20, 1984.

Publicação avulsa

DUNNE, H.W. (Ed). *Enfermedades del cerdo*. México: UTEHA, 1967. 981p.

LOPES, C.A.M.; MORENO, G. Aspectos bacteriológicos de ostras, mariscos e mexilhões. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 14., 1974, São Paulo. *Anais...* São Paulo: [s.n.] 1974, p.97. (Resumo).

MORRIL, C.C. Infecciones por clostrídios. In: DUNNE, H.W. (Ed). *Enfermedades del cerdo*. México: UTEHA, 1967. p.400-415.

NUTRIENT requirements of swine. 6.ed. Washington: National Academy of Sciences, 1968. 69p.

SOUZA, C.F.A. *Produtividade, qualidade e rendimentos de carcaça e de carne em bovinos de corte*. 1999. 44f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

Documentos eletrônicos

QUALITY food from animals for a global market. Washington: Association of American Veterinary Medical College, 1995. Disponível em: <<http://www.org/critica16.htm>>. Acessado em: 27 abr. 2000.

JONHNSON, T. Indigenous people are now more combative, organized. *Miami Herald*, 1994. Disponível em: <<http://www.summit.flu.edu/MiamiHerald-Summit-Related-Articles/>>. Acessado em: 5 dez. 1994.

Taxas de publicação

Taxa de submissão. A taxa de submissão de R\$30,00 deverá ser paga por meio de boleto bancário emitido pelo sistema eletrônico de submissão de artigos. Ao solicitar o boleto bancário, o autor informará os dados para emissão da nota fiscal. Somente trabalhos com taxa paga de submissão serão avaliados.

Taxa de publicação. A taxa de publicação de R\$55,00, por página impressa, será cobrada do autor indicado para correspondência, por ocasião da prova final do artigo. Se houver necessidade de impressão em cores, as despesas correrão por conta dos autores. A taxa de publicação deverá ser paga por meio de boleto bancário emitido pelo sistema eletrônico de submissão de artigos. Ao solicitar o boleto bancário, o autor informará os dados para emissão da nota fiscal.