

SP 3593

P. 128

Investigação epidemiológica de uma nova área autóctone de leishmaniose visceral canina: Bom Sucesso (MG)*

Epidemiological investigation of a new canine visceral leishmaniasis autochthonous area: Bom Sucesso, State of Minas Gerais, Brazil

RESUMO

O Brasil tem relatado um aumento da dispersão geográfica da leishmaniose visceral americana (LVA), que vem conquistando áreas urbanas de muitos municípios – e o cão possui um papel preponderante nessa urbanização. O presente artigo descreve os inquéritos soroepidemiológicos desencadeados em março de 1999 no município de Bom Sucesso (MG) a partir da identificação do primeiro cão com sintomatologia característica, RIFI e PCR diagnósticas de LVA. O município era considerado área indene para a doença. No período de março de 1999 a maio de 2001, o ensaio revelou 22 cães reagentes à RIFI para *Leishmania* entre 734 investigados. Este trabalho também relata as falhas de conduta das autoridades de saúde regionais e locais que prejudicaram o andamento das investigações. Ressalta-se ainda a necessidade de classificar Bom Sucesso como "nova área em investigação para LVA", pelo fato de o município possuir pontos ainda não elucidados sobre a epidemiologia da doença.

Palavras-chave: leishmaniose visceral, epidemiologia; cães

ABSTRACT

In Brazil, American visceral leishmaniasis (AVL) has increased its geographic dispersion, occupying new urban areas of many cities. In the American visceral leishmaniasis urbanization, the dog has a preponderant function. This paper relates serum epidemiological assays from the first dog from Bom Sucesso (Minas Gerais, Brazil) with a characteristic symptomatology of visceral leishmaniasis (AVL), VL positive diagnostic by indirect immunofluorescence antibody test (IIF) and PCR, in March, 1999. The objective was to elucidate the epidemiological situation of canine AVL, to establish control means and to prevent public health. The assay results showed 22 serums positive dogs in 734 investigated by IIF from March, 1999, to May, 2001. Only two of the seropositive dogs were not autochthonous. The authors suggest that Bom Sucesso should be included as a "new area of visceral leishmaniasis investigation", aiming to elucidate obscure epidemiological points.

Key words: leishmaniasis, visceral, epidemiologia; dogs.

Marcio Roberto Silva^I

Rafael de Freitas Fernandes^{II}

Rosângela Silva Martins^{III}

^I Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora (MG)

^{II} Universidade Federal de Juiz de Fora (MG)

^{III} Secretaria de Estado da Educação de Minas Gerais

* Dados preliminares foram apresentados no VI Congresso Brasileiro de Epidemiologia; 2004; Recife (PE).

Introdução

Importante problema de saúde pública^{1,2}, a leishmaniose visceral americana (LVA) causada pela *Leishmania (Leishmania) chagasi* é muito mais comum na atualidade do que há 50 anos, ocorrendo em áreas da América Latina antes consideradas indenes. A extensa destruição de florestas primárias e o desenvolvimento concomitante de fazendas nas clareiras criam condições que permitem a aproximação entre homens e populações de *Lutzomyia longipalpis*, cães e raposas³, possibilitando novos ciclos de transmissão. Por outro lado, a urbanização da LVA em várias cidades latino-americanas tem acontecido em decorrência do êxodo rural e dos conseqüentes bolsões de pobreza urbanos ocasionados^{2,4,5}.

A dispersão geográfica da LVA³ tem sido observada no Brasil e conquista áreas urbanas de muitos municípios^{2,6,7,8,9,10}. O cão possui um papel preponderante nessa urbanização¹¹.

Pesquisas sobre LVA desenvolvidas pela Fundação Oswaldo Cruz na região metropolitana de Belo Horizonte (MG) demonstraram que *Leishmania (Leishmania) chagasi* é o agente etiológico da doença nessa área. Amostras idênticas do parasita (caracterizadas por métodos moleculares) são encontradas em humanos e caninos¹², reforçando a importância do cão na urbanização da endemia.

O objetivo de conhecer a situação da endemia para controlá-la e resguardar a saúde da população^{13,14},¹⁵ deve ser considerado prioritário em doenças infecciosas como a LVA.

O presente trabalho descreve os inquéritos soroepidemiológicos desencadeados de março de 1999 a maio de 2001 no município de Bom Sucesso, Minas Gerais, a partir da identificação do primeiro cão suspeito de LV reagente à sorologia – em uma área considerada antes indene para a doença. Além disso, as atitudes dos envolvidos (setor de saúde, de defesa animal e a comunidade) foram relatadas, buscando estabelecer associações delas com o andamento dos trabalhos de investigação.

Material e Métodos

Região Estudada

O município de Bom Sucesso localiza-se no Centro-Oeste de Minas, com longitude 44° 45' 30" (oeste) e latitude 21° 02' 00" (sul). Sua altitude máxima é de 1.230m; a mínima é de 806m (Rio Grande) e o ponto central da cidade tem altitude de 940m. A temperatura média anual é de 19,9°C, com média

máxima anual de 26,3°C. O município apresenta índice médio pluviométrico anual de 1.597,6mm. A cidade está situada às margens do Rio Pirapetinga, que compõe a bacia do Rio Grande. O município possui uma população de 16.949 habitantes, sendo que 13.566 vivem em área urbana e 3.383 residem na zona rural (Dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), ano base: 2000).

Material Biológico e Histopatologia

Amostras de sangue periférico (orelha) foram coletadas de cada cão em papel de filtro para realização de reação de imunofluorescência indireta (RIFI) na Fundação Ezequiel Dias, em Belo Horizonte (MG). Amostras do cerebelo, rim, fígado e intestino foram coletadas do primeiro cão reagente, preservadas em formol e acondicionadas em bloco parafinado. Esse material foi cortado e corado com hematoxilina e eosina para realização de exames histopatológicos de acordo com Gomes et al.¹¹.

Sorologia

Foi usada a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) na pesquisa de IgG total anti-*Leishmania* em soros de cães. Foram realizados cinco inquéritos sorológicos caninos no período de março de 1999 a maio de 2001, incluindo um inquérito sorológico amostral dos cães presentes em 5% das residências urbanas de Bom Sucesso que possuam donos definidos. Foram coletadas amostras de 734 cães. A RIFI foi avaliada empregando-se conjugados anti-IgG total, diluídos a 1:100, marcados com isotiocianato de fluoresceína (Biomanguinhos, Fundação Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro). O antígeno foi obtido de formas promastigotas de *L. (L.) amazonensis* (cepa MHOM/BR/1960/BH6), fixadas com formol a 1,0% em salina. Cães com reação $\geq 1:40$ foram considerados RIFI reagentes. Entretanto, para uma segurança maior, os cães com reação RIFI = 1:40 foram testados novamente, sendo coletado, além do sangue em papel de filtro, o soro sanguíneo para confirmação da situação do animal^{16,17}.

PCR

O DNA foi extraído de fragmentos de tecidos provenientes do cerebelo, fígado, rim e intestino do primeiro cão reagente. Os iniciadores e as condições da realização da PCR foram aqueles descritos por Marques et al.¹⁸, tendo como alvo a região constante do minicírculo do kDNA da *Leishmania*, com a conseqüente geração de um produto de PCR de 120 pb.

Inquérito Entomológico

O inquérito entomológico foi realizado em junho de 1999 com o uso de armadilhas luminosas tipo CDC^{6,11}. As armadilhas foram utilizadas aos pares e colocadas em três locais distintos do bairro Palmeiras da cidade de Bom Sucesso. O bairro foi escolhido em função da descoberta do primeiro cão soropositivo para leishmaniose visceral. Ambas as armadilhas foram colocadas por três noites em cada um dos locais. Esse trabalho foi efetuado por agentes da Prefeitura a serviço da Fundação Nacional de Saúde (FUNASA).

Pesquisa Qualitativa

Muitas atitudes, fatos ou depoimentos que poderiam ter alguma interface com os andamentos ou resultados da investigação foram registrados.

Resultados

A RIFI foi positiva a 1:40 para o primeiro cão com sintomatologia característica de LVC, proveniente de área urbana central de Bom Sucesso, Minas Gerais, em março de 1999. O animal de oito anos de idade e da raça Pastor Alemão apresentava apatia, onicogrifose e queda difusa de pêlos. Um mês após o primeiro exame sorológico, esse animal apresentou positividade para RIFI até o título de 1:160.

A pesquisa microscópica de amastigotas de *Leishmania* nos tecidos desse cão foi negativa. No entanto, foi observado infiltrado inflamatório, com presença de células gigantes, em amostras de cerebelo e rim. Além disso, a pesquisa de DNA de *Leishmania* pela PCR foi positiva no material coletado do cerebelo, fígado, rim e intestino do animal em questão.

Os resultados dos inquéritos sorológicos caninos realizados de março de 1999 a maio de 2001 revelaram 22 reagentes em 734 investigados (2,9%), incluindo o primeiro cão detectado. Três desses cães reagentes eram provenientes de um bairro central da cidade (Palmeiras). Interessantemente, os outros 19 cães reagentes concentraram-se em 175 amostras (prevalência de 10,8%) provenientes de apenas dois bairros periféricos da cidade (Nossa Senhora Aparecida e São Judas Tadeu). Entre os 22 cães soropositivos pela RIFI apenas dois eram provenientes de outro município (Belo Horizonte). Seis dos 22 cães reagentes apresentaram alguma alteração clínica característica de LV. Um total de 54,5% dos cães reagentes a RIFI apresentou positividade nas diluições entre 1:160 e 1:640.

No inquérito entomológico realizado no município de Bom Sucesso, a *Lutzomyia longipalpis* e outros flebotomíneos não foram reportados.

Os resultados dessa investigação foram repassados aos órgãos de saúde (Diretoria Regional de Saúde e Fundação Nacional de Saúde) para que medidas de controle e busca ativa de casos humanos fossem efetuados.

Discussão

O foco principal deste estudo foi uma investigação epidemiológica a partir do primeiro cão com sinais clínicos, RIFI e PCR diagnósticos de LVA, objetivando conhecer a situação da endemia para controlá-la e resguardar a saúde da população^{13,14,15}. O fato de o primeiro cão ter demonstrado presença de DNA de *Leishmania* pela PCR em vários tecidos reforçam tanto a ocorrência da LVA – pela especificidade do diagnóstico – quanto a sua autoctonia em uma nova área – já que o animal nunca tinha mantido contatos com outros locais.

Diversos autores cobram novos olhares e uma visão integrada no controle das leishmanioses^{2,19,20,21}. Entretanto, para que a investigação epidemiológica pudesse ser iniciada, foi necessário um amplo esforço do veterinário do Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) para sensibilizar as autoridades sanitárias locais, regionais e estaduais sobre a importância do fato. Declarações de que a “leishmaniose visceral ainda se encontrava no cão, não sendo as ações de sua competência” e de que “caso autóctone urbano de LVA canina não oferecia risco à coletividade” – respectivamente expressas por coordenadores de epidemiologia da Diretoria Regional de Saúde (DRS) e da FUNASA Regional – exemplificam a falta de uma visão integrada da epidemiologia da LVA.

Ao final, a FUNASA regional solicitou o envolvimento do veterinário em questão e de um outro, professor da Universidade Federal de Lavras (UFLA), para que auxiliassem nas investigações epidemiológicas que prosseguiriam.

A partir de então foram realizados dois inquéritos sorológicos nos meses de março e junho de 1999¹⁶.

O primeiro inquérito revelou um segundo cão reagente. Esse cão possuía quatro anos de idade, era nascido em Belo Horizonte (MG) e há dois anos vivia em Bom Sucesso, não sendo clara a sua situação de autoctonia.

A demora para liberação dos resultados do segundo inquérito realizado motivou os dois veterinários a

implantarem um terceiro inquérito, abrangendo bairros da periferia da cidade que possuíam, como possíveis agravantes para leishmaniose, condições ecológicas e sociais propícias para a complementação dos ciclos epidemiológicos^{4,22}. Esse inquérito sorológico, complementar à metodologia oficial preconizada⁶ e com conhecimento e aprovação da FUNASA Regional, processou-se na forma de um mutirão de coletas de amostras com ajuda de voluntários diversos. As amostras coletadas ficaram sob responsabilidade da Secretaria Municipal de Saúde (SMS), que deveria encaminhá-las à FUNASA Regional. Porém, os resultados dessas coletas não foram divulgados pelos órgãos de saúde competentes devido a um suposto "extravio" das amostras, o qual provocou descontinuidade das investigações epidemiológicas por 15 meses.

As explicações para o suposto extravio não foram totalmente esclarecedoras. O chefe da FUNASA Regional ressaltou em ofício que "não tinha participação nesse inquérito", contradizendo um primeiro ofício encaminhado ao IMA e concluindo que "as amostras desse terceiro inquérito não foram remetidas à Fundação pelo município". Por outro lado, o Secretário Municipal de Saúde relatou ao jornal local *Tribuna de Lavras* que "os resultados revelaram-se negativos" e, um ano depois, alegou em matéria publicada no *Jornal Estado de Minas Gerais (JEMG)* que "o material foi postado de forma simples e extraviou"²².

De posse da referida matéria divulgada pelo JEMG e desencadeada a partir de denúncias da população local insatisfeita com as controvérsias sobre o "extravio" das amostras, a Promotoria Pública instaurou um inquérito civil exigindo um ajustamento de condutas por parte do município – inquérito sorológico amostral dos cães com donos definidos existentes em 5% das residências da cidade²³. Paralelamente, instaurou-se um inquérito criminal.

Mesmo que o resultado dessa amostragem exigida pela Promotoria Pública (outubro de 2000) tenha se revelado negativo, parece ter conscientizado a população sobre a possibilidade de novos cães reagentes para LVA. Assim, em dezembro de 2000, três novos cães foram confirmados positivos por sorologia, a partir de sinais clínicos detectados por seus proprietários (ressalta-se que o último cão reagente havia sido detectado em maio de 1999). Desses três cães, o primeiro detectado reagente foi eutanasiado na Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), sendo todo o histórico comunicado à Secretaria Municipal de Saúde (SMS) de Bom Sucesso – que não estabelecera as devidas medidas de controle. Proveniente de Belo

Horizonte, esse cão residia há um ano e meio no município em investigação.

Os dois cães restantes, ambos reagentes, eram próprios de Bom Sucesso. Um residia no Bairro São Judas Tadeu; o outro, no Bairro Rosário. Esse achado desencadeou a execução de um inquérito sorológico em todas as residências dos dois bairros em questão, revelando mais 17 cães reagentes. As condições ecológicas e sociais inerentes a esses dois bairros podem explicar, em parte, a situação epidemiológica evidenciada^{24,25}.

A implantação e a continuidade dessa investigação depararam-se, por diversas vezes, com impedimentos e divergências. O suposto "extravio" de amostras ocorrido no terceiro inquérito sorológico pode ter comprometido ou postergado a elucidação da situação epidemiológica da LVA em Bom Sucesso^{5,26}.

Vinte dos 22 cães reagentes à RIFI-*Leishmania* detectados eram próprios de Bom Sucesso. Isso caracteriza o município como nova área de ocorrência de leishmaniose visceral autóctone canina²⁷ – portanto, uma condição que demandava controle e vigilância^{21,28}.

As alterações clínicas apresentadas pelos cães reagentes no presente trabalho foram anteriormente verificadas por outros autores em áreas de ocorrência de LVA canina no Brasil¹⁶. Cerca de 27% dos cães reagentes apresentaram alguma alteração clínica visível compatível com LVA. Em conformidade, outros estudos têm apresentado em torno de 30% dos cães infectados com sinais clínicos aparentes^{1,25,29}.

As altas diluições apresentadas à RIFI por uma parcela expressiva de soros (1/160, 1/320, 1/640, por quatro, seis e dois cães, respectivamente) diminuem a chance de falso-positivos, conforme afirmam outros autores³⁰. Além disso, muitos autores defendem que os resultados positivos observados em testes diagnósticos de LVA não-invasivos, baseados em detecção de anticorpos específicos, são comparáveis à detecção direta de parasitas^{1,2,25,30,31,32,33,34,35}.

A leishmaniose visceral humana nem sempre obedece a uma distribuição espacial paralela à do calazar canino. Tem sido observado que as infecções caninas são mais freqüentes que as humanas e que, normalmente, precedem-nas^{5,8,19}. Quando aparecem surtos caninos em áreas não endêmicas, a busca ativa de possíveis pessoas infectadas é recomendada⁸. Entretanto, essa busca de forma preventiva não foi efetuada em Bom Sucesso pelos órgãos de saúde.

Nos dois inquéritos entomológicos, realizados em junho de 1999 e fevereiro de 2001, o vetor *Lutzomyia longipalpis* não foi capturado. No primeiro inquérito, realizado num período frio na região, a população do vetor poderia estar em baixa concentração¹⁹. Outra possível explicação para a não-deteção do vetor em ambos os inquéritos é o fato de as armadilhas terem sido instaladas por funcionários da Secretaria Municipal de Saúde sem a devida capacitação nem acompanhamento por parte dos órgãos superiores de saúde da região. Entretanto, em 1995 o *Lutzomyia longipalpis* foi identificado pela FUNASA em Santo Antônio do Amparo, a 20 km de Bom Sucesso.

Ressalta-se que todos os cães reagentes detectados no presente estudo foram eutanasiados humanitariamente na UFLA.

Ao final da investigação epidemiológica, foram repassadas as seguintes orientações ao município pelos peritos, sob determinação da Promotoria Pública: ações de controle disponíveis para as leishmanioses americanas², com ênfase para a formação de equipe específica de vigilância; realização de inquéritos sorológicos e entomológicos complementares; controle da população de cães vadios; e ações educativas. Entre as orientações repassadas, somente a formação de uma equipe para vigilância e a realização de inquéritos sorológicos caninos complementares foram efetivadas pelo município. Os inquéritos sorológicos foram insatisfatórios e nenhuma ação direcionada ao controle dos possíveis vetores foi realizada.

Os impasses encontrados na presente investigação desencadeiam algumas indagações. A descentralização da saúde para estados e municípios, preconizada pelo Sistema Único de Saúde (SUS), está sendo acompanhada por uma simultânea capacitação das instâncias inferiores nas áreas de vigilância sanitária e epidemiológica? Em caso negativo, preceitos do SUS como "saúde para todos" com "integralidade das ações" poderiam ficar comprometidos. Municípios com características semelhantes a Bom Sucesso estão plenamente capacitados para enfrentarem problemas sanitários não usuais sem o respaldo de órgãos regionais de saúde como FUNASA e DRS?

Conclusões

Conclui-se que Bom Sucesso caracteriza-se como uma nova área de leishmaniose visceral canina autóctone. Mas, diante de tantos pontos ainda obscuros da epidemiologia e do controle locais da LVA, salienta-se a necessidade de sua inclusão entre os "municípios em investigação para LVA",

para que ainda sejam realizadas atividades de vigilância e controle complementares.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Promotoria Pública de Bom Sucesso, na pessoa do promotor Fernando Pinto Colmenero, sem a ajuda do qual grande parte da presente investigação teria sido inviabilizada. A todos os voluntários que contribuíram nas investigações, ressaltando a participação dos estudantes locais e também a dos estudantes de veterinária da UFLA. Finalmente, à Fundação Ezequiel Dias, ao Centro de Pesquisas René Rachou/FIOCRUZ e às Universidades Federais (de Minas Gerais, de Lavras e de Juiz de Fora) pela realização dos diversos exames laboratoriais confirmatórios.

Referências

1. Feitosa MM, Ikeda FA, Luvizotto MCR, Perri SHV. Aspectos clínicos de cães com leishmaniose visceral no município de Araçatuba, São Paulo (Brasil). *Clín Vet* 2000;28:36-44.
2. Grimaldi Jr G, Tesh RB, McMahon-Pratt D. A review of the geographic distribution and epidemiology of leishmaniasis in the new world. *Am J Trop Med Hyg* 1989;44: 687-725.
3. Laison R. Demographic changes and their influence on the epidemiology of the American leishmaniasis. In: Service NW, editors. *Demography and vector-borne diseases*. Boca Raton: CRC Press; 1989. p.85-106.
4. Grimaldi Jr G, Tesh RB. Leishmaniasis of the new world: current concepts and implications for future research. *Clin Microbiol Rev* 1993;6:230-50.
5. Rosa ICAS, Oliveira ICS. Leishmaniose visceral: breve revisão sobre uma zoonose reemergente. *Clín Vet* 1997;11:24-8.
6. Fundação Nacional de Saúde. *Controle, diagnóstico e tratamento da leishmaniose visceral (calazar)*. Brasília: FUNASA; 1996.
7. Galimberti MZ, Katz G, Camargo-Neves VLF, Rodas LAC, Casanova C, Costa AI, et al. Leishmaniose visceral americana no Estado de São Paulo. *Rev Soc Bras Med Trop* 1999;32(Supl 1):217.
8. Nunes VLB, Galati EAB, Nunes DB, Zinezzi RO, Savani ESMM, Ishikawa E, et al. Ocorrência de leishmaniose visceral canina em assentamento agrícola no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2001;34:301-2.

9. Secretaria de Estado da Saúde de Minas Gerais. Informativo Zoonoses em Minas. Belo Horizonte: SESMG; 1994.
10. World Health Organization. Tropical diseases: progress in research, 1989-1990. In: Tenth Programme Report. Geneva: WHO; 1990. p.79-87.
11. Gomes AC, Paím GV, Ottati SM, Coutinho SG, Reichmann ML, Scapolan HB. Observações sobre a importância epidemiológica do cão na leishmaniose tegumentar no Estado de São Paulo. In: Anais do 1º Congresso Brasileiro de Zoonoses; 1987; Rio de Janeiro. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde; 1987. p.69.
12. Silva ES. Leishmaniose Visceral canina na Região Metropolitana de Belo Horizonte, Minas Gerais: Diagnóstico, aspectos clínicos e caracterização molecular de amostras de *Leishmania* isoladas de animais e humanos. Bol Inf Assoc Nac Clín Vet Peq Anim Minas Gerais 1998;47:9.
13. Martins EV. Apresentação. In: Rojas LBI, Toledo LM, organizadores. Espaço e doença: um olhar sobre o Amazonas. Rio de Janeiro: FIOCRUZ; 1998. p.7.
14. McQueen D. Epidemiologia social aproxima-se da promoção. Súmula 2002; 88:5.
15. Rojas LBI, Toledo LM. Introdução. In: Rojas LBI, Toledo LM, organizadores. Espaço e doença: um olhar sobre o Amazonas. Rio de Janeiro: FIOCRUZ; 1998. p.11.
16. Fundação Nacional de Saúde. Estudo dirigido sobre as leishmanioses. Belo Horizonte: FUNASA; 1996.
17. Fundação Oswaldo Cruz. IFI: leishmaniose canina. Imunofluorescência indireta para diagnóstico da leishmaniose canina. Rio de Janeiro: Biomanguinhos/FIOCRUZ; 1999.
18. Marques MJ, Volpini AC, Genaro O, Mayrink W, Romanha AJ. Simple form of clinical sample preservation and *Leishmania* DNA extraction from human lesions for diagnosis of American cutaneous leishmaniasis via polymerase chain reaction. Am J Trop Med Hyg 2001;65:902-6.
19. Acha PN, Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2nd rev. ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud; 1986.
20. Silva MR. Leishmaniose Visceral: confirmado mais um caso da doença em Bom Sucesso. Jornal Tribuna de Lavras 1999 Junho 5;13.
21. Telarolli-Junior, R. Epidemias no Brasil: uma abordagem biológica e social. 3 rev. ed. São Paulo: Moderna; 1995.
22. Rose F. Amostras de sangue para leishmaniose se extraviam. Jornal Estado de Minas Gerais 2000 Agosto 4;29.
23. Sampaio IBM. Estatística aplicada à experimentação animal. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia; 1998.
24. Mayrink W. Protection against canine visceral leishmaniasis by using a vaccine composed of killed promastigotes of *Leishmania braziliensis*. Mem I Oswaldo Cruz 1994;89(Supl 1):179.
25. Organización Mundial de la Salud. Las leishmaniasis. Informe de un Comité de Expertos de la OMS. Ginebra: OMS; 1984.
26. Silva MR. Saúde em Bom Sucesso: a gente não quer só comida e cura da doença, a gente quer comida inspecionada, prevenção geral, trabalho, educação e arte; a gente quer saída para qualquer parte. Jornal Tribuna de Lavras 1999 Julho 9;6.
27. Silva MR. Primeiro caso de leishmaniose visceral (calazar) em cão, em Bom Sucesso: prevenir para que a doença não atinja as pessoas. J Trib Lavras 1999 Março 11;7.
28. Momen H. Emerging infectious diseases: Brazil. Emerg Infect Dis 1998;4:1-3.
29. Hipólito O, Freitas MG, Figueiredo JB. Doenças infecto-contagiosas dos animais domésticos. São Paulo: Melhoramentos; 1965.
30. Badaró R, Reed SG, Carvalho EM. Immunofluorescent antibody test in American visceral leishmaniasis: sensitivity and specificity of different morphological forms of two *Leishmania* species. Am J Trop Med Hyg 1983;32:480-4.
31. Choudhry A, Guru PY, Saxena RP, Tandon A, Saxena KC. Enzyme-linked immunosorbent assay in the diagnosis of kala-azar in Bhadohi (Varanasi), India. Trans R Soc Trop Med Hyg 1990;84:363-6.
32. El-Safi SH, Evans DA. A comparison of the direct agglutination test and enzyme-linked immunosorbent assay in the sero-diagnosis of leishmaniasis in the Sudan. Trans R Soc Trop Med Hyg 1989;83:334-7.
33. Mengistu G, Akuffo H, Fehniger TE, Nagese Y, Nilsen R. Comparison of parasitological and immunological methods in the diagnosis of leishmaniasis in Ethiopia. Trans R Soc Trop Med Hyg 1992;86:154-7.
34. Zijlstra EE, Ali Siddig M, El-Hassen AM, El-Toum IA, Satti M, Ghalib HW, et al. Direct agglutination test for diagnosis and sero-epidemiological survey of kala-azar in the Sudan. Trans R Soc Trop Med Hyg 1991;85:474-6.

35. Zijlstra EE, Ali Siddig M, El-Hassen AM, El-Toum IA, Satti M, Ghalib HW, et al. Kala-azar: a comparative study of parasitological methods and the direct agglutination test in diagnosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1992;86:505.

Endereço para correspondência

Marcio Roberto Silva
Embrapa Gado de Leite
R. Eugênio do Nascimento, 610 - Dom Bosco
Juiz de Fora / MG - Brasil
CEP 36038-930
E-mail: mrsilva@cnpgl.embrapa.br

Recebido em 30/06/2005
Aprovado em 02/02/2006

Ministério da Saúde
Secretaria de Vigilância em Saúde
Centro Colaborador de Vigilância Sanitária

ISSN 1678-9892

revista brasileira de
vigilância sanitária

REVISA

brazilian journal of
health surveillance

Volume 2 Número 1 Jan-Mar 2006