



Universidade de Brasília  
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária

Juliana dos Santos Batista

**Parasitoses de Roedores do Cerrado: Um Estudo de Caso  
Sobre a Leishmaniose**

Brasília

2013



Universidade de Brasília  
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária

Juliana dos Santos Batista

## **Parasitoses de Roedores do Cerrado: Um Estudo de Caso Sobre a Leishmaniose**

Trabalho de conclusão de curso de graduação em Medicina Veterinária como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de médico veterinário.

Orientador: Rafael Veríssimo Monteiro

Brasília

2013

Batista, Juliana dos Santos

Parasitoses de Roedores do Cerrado: Um Estudo de Caso sobre a Leishmaniose. / Juliana dos Santos Batista; orientação de Rafael Veríssimo Monteiro; – Brasília, 2013.

55 p.: il.

Monografia de Graduação – Universidade de Brasília – UnB/ Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2013.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

BATISTA, J.S. Parasitoses de Roedores do Cerrado: Um Estudo de Caso sobre a Leishmaniose **Monografia (graduação)** - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária – FAV, Universidade de Brasília – UnB, Brasília, 55 p., 2013.

### Cessão de Direitos

**Nome do Autor:** Juliana dos Santos Batista

**Título da Monografia de Conclusão de Curso:** PARASITOSSES DE ROEDORES DO CERRADO: UM ESTUDO DE CASO SOBRE A LEISHMANIOSE

**Ano:** 2013.

É concedida à Universidade de Brasília a permissão para a reprodução e divulgação desta monografia para fins acadêmicos e científicos. A autora reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta monografia pode ser reproduzida sem a autorização por escrito da autora.

---

Juliana dos Santos Batista

## FOLHA DE APROVAÇÃO

### Parasitoses de Roedores do Cerrado: Um Estudo de Caso Sobre a Leishmaniose

Juliana dos Santos Batista

Monografia de conclusão do Curso de Medicina Veterinária apresentada à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. Rafael Veríssimo Monteiro (Orientador)      Instituição: Universidade de Brasília

Julgamento: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Vitor Salvador Picão Gonçalves

Instituição: Universidade de Brasília

Julgamento: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Méd. Vet. Narjara Veras Grossmann

Instituição: Universidade de Brasília

Julgamento: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

## Agradecimentos

A sensação que eu tenho é a de que é o fim de um longo caminho, quando na verdade sei que é apenas o início. Caminho este que jamais teria dado sequer o primeiro passo sozinho, a caminhada foi minha, mas o crédito é nosso, a todos aqueles que acreditaram em mim quando nem mesmo eu acreditava, a cada sorriso quando precisei, a cada abraço, ligação ou palavra de estímulo o meu muito obrigada!

À Deus acima de todas as coisas e por ter me dado a graça de chegar até aqui, aos meus pais por me darem a vida e por sempre acreditarem nos meus sonhos e me incentivarem a sonhar. À minha irmã por ser a companheira, amiga e inimiga de todas as horas. À minha família, que sempre me apoiou, àqueles que podem comemorar esta vitória comigo e àqueles que torcem por mim lá de cima. E à família que pude escolher, meus amigos, pelos risos, pela companhia, pelas brincadeiras, enfim pela amizade! Em especial aos Lunáticos, sem vocês eu não teria chegado até aqui. Ao meu namorado, pelo apoio, compreensão e atenção. Aos mestres pela paciência, pelo conhecimento e por acreditarem em mim, em especial ao meu orientador pela atenção, por muito mais do que corrigir esta monografia, me ensinar e me tornar uma profissional melhor. Aos membros da banca pela disponibilidade, atenção e pelas correções. À turma 23 pela amizade e companheirismo de 5 anos e que continuem, agora como colegas de profissão. Aos muitos amigos que fiz nas aulas, congressos e estágios ao longo da graduação que me ensinaram muito mais do que veterinária, me ensinaram amizade e companheirismo. Procurei não citar nomes, porque graças a Deus são muitas as pessoas importantes na minha vida e não queria deixar ninguém de lado, mas que todos aqueles que passaram e levaram um pouquinho de mim e deixaram comigo um pouco de si, sintam-se homenageados.

E por que não, agradecer também aos animais, que foram a razão de ter escolhido este caminho, de ter permanecido e de hoje terminar esta etapa. A todos aqueles que eu recolhia da rua quando era criança, aos meus animais de estimação, àqueles que cederam seus corpos nas aulas de anatomia, cirurgia, clínica; e aos 34 roedores capturados na Estação Ecológica de Águas Emendadas, pois sem eles esse trabalho não existiria. E em especial ao Tito que foi meu companheiro por 11 anos e cuja companhia ainda faz falta.

“A verdadeira felicidade não depende de nenhum ser, de  
nenhum objeto exterior.  
Só depende de nós”.

Dalai Lama

## Resumo

A ecologia de hospedeiros e patógenos tem ganho destaque na epidemiologia de doenças com a participação de animais silvestres em seu ciclo. A teoria do efeito de diluição tem despertado interesse ao mostrar que ambientes com menor biodiversidade têm maior prevalência de doenças infecciosas. A leishmaniose no Distrito Federal apresentou aumento no número de casos coincidentes com o período de maior urbanização da região. A Estação Ecológica de Águas Emendadas fica a nordeste do DF e durante os meses de maio e junho de 2012, foram realizadas capturas de roedores por três noites em cada mês. Os animais capturados eram das espécies *Necromys lasiurus* e *Calomys tenner*, foi feita coleta de sangue para análises sanguíneas e de amostra de fragmento de orelha para imunohistoquímica e extração de DNA (PCR) para identificação de infecção por *Leishmania* sp. Foram capturados 34 animais, e foram coletadas 9 amostras de sangue e 34 biópsias de orelha. Não houve nenhum resultado positivo nas análises de tecido, o que não exclui a presença da infecção na população amostrada. Devido às características da leishmaniose e das espécies capturadas poderia-se supor que se a doença fosse encontrada em ambas as espécies e que *N. lasiurus* fosse melhor reservatório para o parasita, em áreas de maior biodiversidade a prevalência da doença no vetor seria menor, por existirem mais opções de animais onde se alimentar. Já em áreas de menor biodiversidade, a prevalência seria maior, já que a principal espécie em que se alimentariam seria o *N. lasiurus*, a espécie mais abundante nestas condições.

Palavras-chave: efeito de diluição, *Necromys lasiurus*, *Calomys tenner*, Estação Ecológica de Águas Emendadas, biodiversidade.

## Abstract

The ecology of hosts and pathogens has gained attention in the epidemiology of diseases involving wild animals in their cycle. The theory of dilution effect has been of interest to show that environments with low biodiversity have higher prevalence of infectious diseases. Leishmaniasis in the Distrito Federal (DF) had an increase in the number of cases coinciding with the period of greatest urbanization in the region. The Estação Ecológica de Águas Emendadas is northeast of DF and during the months of May and June 2012, rodents were captured for three nights each month. The species captured were *Necromys lasiurus* and *Calomys tenner*, blood collection and sample fragment of ear for immunohistochemistry and DNA extraction (PCR) were collected for identification of *Leishmania* infection. Were captured 34 animals, but only 9 blood samples and 34 fragments of ear. There was no positive result in analysis of tissue, which does not exclude the presence of infection. Due to the characteristics of leishmaniasis and the species captured could be assumed that if the disease were found in both species and that *N. lasiurus* was better reservoir for the parasite, in the most biodiverse areas the prevalence of the disease in vector would be lower, because there are more choices of animals to bite. Already in areas of low biodiversity, the prevalence is greatest, since the main specie that would feed would be *N. lasiurus*, the most abundant specie.

Key words: Dilution effect, *Necromys lasiurus*, *Calomys tenner*, Estação Ecológica de Águas Emendadas, biodiversity.



# Sumário

Sumário .....	9
1. Introdução .....	11
2. Revisão Bibliográfica .....	13
2.1 O Ambiente: o Cerrado .....	13
2.2 O parasito e a doença: <i>Leishmania</i> e Leishmaniose .....	15
2.2.1 Ciclo de Vida do Protozoário .....	16
2.2.2 As formas clínicas da Leishmaniose.....	18
2.2.3 Distribuição da Leishmaniose .....	20
2.2.4 Diagnóstico da Leishmaniose .....	23
2.2.5 Tratamento da Leishmaniose .....	25
2.2.6 Controle da Leishmaniose .....	25
2.3 Diversidade Biológica e o Efeito de Diluição.....	28
2.3.1 O exemplo da doença do Lyme .....	31
3 Discussão .....	34
4. Anexo : Pesquisa de <i>Leishmania</i> em pequenos mamíferos da Estação Ecológica de Águas Emendadas .....	38
4.1 Material e Metodologia .....	38
4.1.1 Área de Estudo.....	38
4.1.2 Captura dos Animais.....	39
4.1.3 Espécies capturadas.....	40
4.1.3.1 <i>Necromys lasiurus</i> .....	40
4.1.3.2 <i>Calomys tenner</i> .....	42
4.1.4 Colheita de Material Biológico .....	43
4.1.5 Análise do Material Biológico .....	44
4.1.5.1 Sangue .....	44
4.1.5.2 Reação em cadeia de polimerase (PCR) .....	45
4.1.5.3 Imunohistoquímica.....	45
4.2 Resultados.....	46
4.2.1 Análise Sanguínea .....	46
4.2.2 Análises Moleculares .....	46

4.3	Discussão .....	47
4.4	Conclusão.....	49
5	Referências Bibliográficas .....	50

## **1. Introdução**

O desenvolvimento acelerado da sociedade urbana vem diminuindo cada vez mais a barreira entre o silvestre e o urbano. Esta ocupação desordenada de áreas florestais e o crescimento das áreas urbanas aumenta a proximidade entre humanos, animais domésticos e animais silvestres (Daszak et al, 2001; Palmer et al, 2005). Essa proximidade favorece a disseminação de doenças, tanto dos animais para os homens, quanto dos homens para os animais. Tais doenças são conhecidas como zoonoses (Daszak et al, 2001; Palmer et al, 2005). De todas as doenças emergentes das últimas décadas, 60% são provocadas por patógenos de origem animal ou produtos de mesma origem, e 70% destas, originaram-se de animais silvestres (WHO, 2012'; Daszak et al, 2001).

Na maioria das doenças os patógenos não afetam uma única espécie. Seu ciclo envolve diversas espécies de vetores e hospedeiros que têm a capacidade variável de suportar as alterações fisiológicas provocadas pelo agente e transmiti-lo para outros hospedeiros. Estes vetores e hospedeiros, por sua vez, estão envolvidos em comunidades ecológicas. Desta forma, o estudo de tais comunidades e a compreensão da dinâmica da relação hospedeiro- agente patogênico pode ajudar a entender e prevenir tais doenças, pois é a única forma de entender a participação dos animais silvestres no ciclo da doença. A resultante de tal dinâmica (que depende dos fatores ecológicos ligados ao foco infeccioso) pode levar a um aumento ou decréscimo no risco para os humanos (Schmidt & Ostfeld, 2001; Disney & Ruedas, 2009).

Cada espécie de reservatório vai ter características próprias de manutenção e transmissão do agente. Assim, se o vetor tiver um contato maior com reservatórios competentes, uma maior quantidade de vetores estará infectada, com maior risco de transmissão para humanos. Da mesma forma, se o vetor tiver mais contato com reservatórios não competentes, a infecção vetorial será baixa, diminuindo as chances de transmissão (Schmidt & Ostfeld, 2001). Quando há uma maior diversidade o vetor tem mais opções onde se alimentar, como muitos não são bons transmissores da doença, essa diversidade tem um efeito de diluição da prevalência da doença no vetor (Schmidt & Ostfeld, 2001; Disney & Ruedas, 2009).

Uma doença infecciosa transmitida por vetor que vem apresentando-se como um desafio para a saúde pública, é a Leishmaniose. Antes a leishmaniose era uma doença de caráter rural; hoje em dia ela apresenta altos índices de incidência nos grandes centros urbanos. No Brasil foram registrados mais de 3800 casos no ano de 2011 apenas da leishmaniose visceral (Brasil, 2012; Brasil, 2006, Palatnik-de-Sousa & Day, 2011). Um erro fatal que vem sendo cometido no combate às doenças infecciosas é a abordagem de apenas um aspecto da doença, apenas a doença em humanos, ou apenas o combate ao vetor; esquece-se que homem, animais e meio ambiente estão interligados, que a epidemiologia da doença envolve estes fatores (Palatnik-de-Sousa & Day, 2011).

## **2. Revisão Bibliográfica**

### **2.1 O Ambiente: o Cerrado**

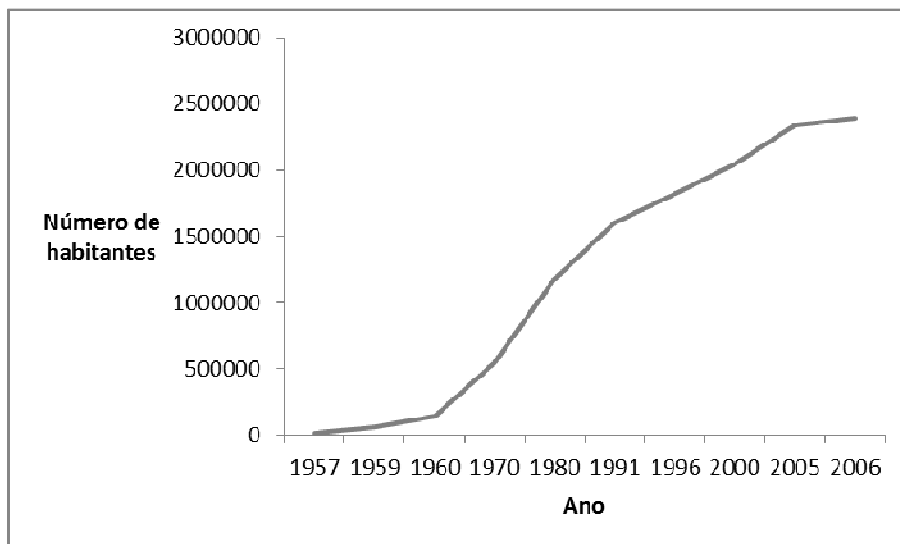
O cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, ocupando 21% do território nacional (Klink & Machado, 2005; Rocha, 2011; Machado et al, 2004). E é considerado atualmente um dos principais “hotspots” de biodiversidade mundiais (Myers et al, 2000). Isso devido ao seu alto grau de endemismos e à grande perda de habitat que vem sofrendo, sobretudo devido à degradação dos solos e dos ecossistemas, a invasão de espécies exóticas e a expansão urbana (IUCN, 2012) além da ocupação agropecuária, que vem transformando grandes áreas em pastagens plantadas e culturas (Myers et al, 2000; Klink & Machado, 2005). Machado et al (2004) mostra que o cerrado já teve destruída uma área de cerca de 54,9% da porção original, o que corresponde a três vezes mais do que a área desmatada na Amazônia no mesmo período.

Apesar destas pressões, apenas 33.000 km<sup>2</sup> (2,2% do total de área do cerrado) estão sobre áreas de preservação legal, enquanto a área usada para pastagens corresponde a 500.000 km<sup>2</sup> (33,3%) e, para monoculturas, 100.000 km<sup>2</sup> (6,6%) (Klink & Machado, 2005). Machado et al (2004) sugere que, das 137 espécies ameaçadas de extinção no bioma, 72% não estão adequadamente protegidas e 20% estão fora das áreas de proteção legais. Isto é um indícios de que as atuais estratégias de conservação para o cerrado são falhas e precisam ser revistas. Isso se deve também à maneira como o código florestal trata os diferentes biomas brasileiros, enquanto exige que um percentual de 80% das áreas de floresta tropical sejam preservadas, nas áreas agrícolas esta porcentagem é de apenas 20% (Klink & Machado, 2005). Compilando alguns estudos e utilizando seus próprios

dados, Machado et al (2004) prevêem que se as políticas públicas forem mantidas como estão, e as tendências de ocupação das áreas naturais continuarem provocando perdas anuais de 2,2 milhões de hectares ao ano, este bioma irá desaparecer em 2030.

Esta intensa ocupação urbana no cerrado é vista no Distrito Federal, sobretudo após a construção de Brasília e com a ocupação desordenada do entorno da Capital (Romero, 2003). O DF teve mais de 50% de sua vegetação nativa alterada entre os anos de 1954 e 1998 (Romero, 2003). Em 1990 a área urbana ocupava cerca de 438.000 hectares e em 1994 essa área passou a 560000 hectares (aumento de 28%) (Romero, 2003). Isso também se deve crescimento populacional vivenciado no DF neste período (Gráfico 1).

**Gráfico 1: Crescimento Populacional do Distrito Federal de 1957-2006. Adaptado de Censo Experimental e Censos Demográficos IBGE.**



As espécies de mamíferos do cerrado são compostas principalmente pelos pequenos mamíferos (85% possuem massa corporal inferior a 5 kg), principalmente roedores (51 espécies) e morcegos (81), e apenas 5 espécies ultrapassam os 50 kg (Marinho-Filho et al, 2002). Outra característica da mastofauna do cerrado é que se

tem espécies que habitam diversos habitats. Cerca de 54% das espécies de mamíferos habitam tanto as áreas florestais quanto as áreas abertas, enquanto 16% são exclusivos de áreas abertas e 29% de áreas florestais (Marinho-Filho et al, 2002). Acredita-se que a fauna do cerrado seja derivada de um conjunto de espécies florestais e influenciada pelos biomas circunvizinhos, as florestas tropicais, o que explica uma maior biodiversidade nestas áreas e uma menor taxa de endemismos para mamíferos, 18 espécies (9,3%) (Redford & Fonseca, 1986; Marinho-Filho et al, 2002).

## **2.2 O parasito e a doença: *Leishmania* e Leishmaniose**

A *Leishmania* é um protozoário da família *Trypanosomatidae*. No Brasil a espécie mais importante como agente da Leishmaniose Visceral é a *Leishmania infantum chagasi* (Ashford, 2000). E o principal agente da Leishmaniose Tegumentar é a *L. braziliensis* (Ashford, 2000). A *L. i. chagasi* já foi isolada de uma série de animais silvestres, como *Didelphis albiventris* e *D. marsupialis*, os roedores *Proechimys canicollis*, *P. semispinosus* e *P. guyannensis* e *Akodon* sp.; o cachorro-do-mato, *Cerdocyon thous*, o rato preto (*Rattus rattus*) alguns primatas e até alguns morcegos brasileiros (Lainson & Rangel, 2005; Lainson, 1997; Travi et al, 1998; Quinzel & Courtenay, 2009; Malta et al, 2010; Savani et al, 2010). Na maioria destas espécies silvestres a infecção tem caráter assintomático (Quinzel & Courtenay, 2009).

A Leishmaniose é uma doença causada por protozoários do gênero *Leishmania*, que possui cerca de 30 espécies, 20 são zoonóticas (Ashford, 2000; Lukes et al, 2007). Todas as formas de leishmaniose são transmitidas por flebotomíneos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae; Ashford, 2000). De acordo

com a sintomatologia as leishmanioses podem ser classificadas em dois grandes grupos: as tegumentares, que afetam pele e mucosas e a visceral que afeta órgãos internos como fígado, baço e linfonodos (Ashford, 2000).

Para a ocorrência da doença em uma determinada área, são necessários, basicamente a presença do vetor, de um hospedeiro infectado e de um hospedeiro ou reservatório suscetível (Gontijo & Melo, 2004). A capacidade de um dado hospedeiro mamífero para a manutenção de *Leishmania* depende de muitas questões, sendo que as mais importantes são a densidade populacional do mesmo, a duração da infecção (e longevidade do hospedeiro), a localização dos parasitas no animal, e do estado imunológico do mesmo. O termo “reservatório” deve ser restrito às espécies que sustentam o sistema de reservatório em que um parasita sobrevive indefinidamente (Ashford, 2000).

### **2.2.1 Ciclo de Vida do Protozoário**

A principal forma de transmissão é através da picada, durante o repasto sanguíneo, da fêmea de mosquitos da família *Psychodidae*, também conhecidos como mosquitos-palha (Gontijo & Melo, 2004; Brasil, 2006). No Brasil, a principal espécie transmissora é a *Lutzomyia longipalpis* (Gontijo & Melo, 2004). O comprimento do flebotomíneo varia entre 1 a 3 mm, possui o corpo revestido de pelos e cor clara (figura 1), cor de palha, as larvas desenvolvem-se em ambientes terrestres úmidos, ricos em matéria orgânica e com baixa luminosidade, apenas as fêmeas se alimentam de sangue para o desenvolvimento dos ovos (Brasil, 2006). As fêmeas realizam o repasto sanguíneo em diversas espécies, inclusive o homem e possuem hábitos crepusculares e noturnos (Brasil, 2006).



Existem apenas dois estágios de vida do protozoário: amastigota e promastigota (Ashford, 2000). Amastigota (figura 2) é a forma intracelular, é a forma encontrada nos monócitos e macrófagos dos hospedeiros vertebrados (Ashford, 2000). No vetor, a amastigota se torna promastigota (figura 3), que é ingerido pelo flebotomíneo ao picar um hospedeiro infectado e se replica no intestino do vetor (Ashford, 2000). A forma infectante promastigota metacíclica, localiza-se na faringe e esôfago do vetor; quando o inseto realiza o repasto sanguíneo o parasita é liberado juntamente com a saliva do flebotomíneo. Já na epiderme do hospedeiro o parasita é fagocitado por macrófagos (Brasil, 2006). No interior destes macrófagos, se diferenciam em amastigotas e iniciam a replicação até romperem a célula para que novos macrófagos fagocitem os amastigotas que se disseminam por órgãos ricos em tecidos linfóides como baço, medula óssea e linfonodos (Brasil, 2006; Palatnik-de-Sousa & Day, 2011). A figura 5 exemplifica o ciclo do parasito.



Figura 1: Fêmea do flebotomíneo adulta engurgitada. Brasil, 2006.

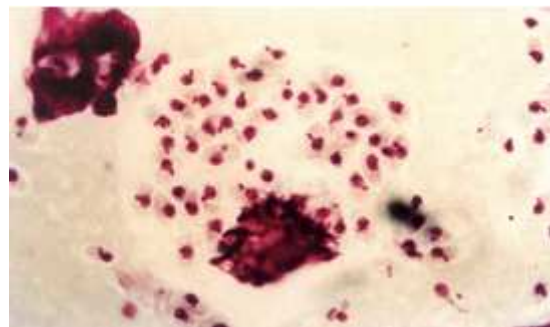


Figura 2: Forma amastigota. Brasil, 2006.

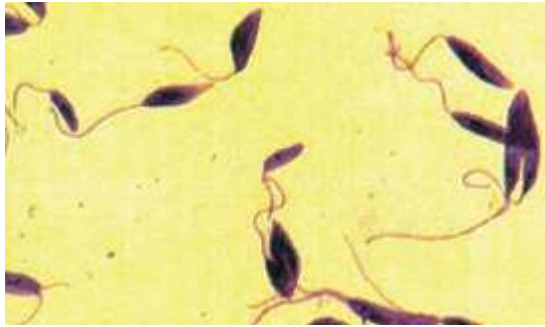


Figura 3: Forma flagelada, ou promastigota. Brasil, 2006.



Figura 4: Cão com emagrecimento e lesões na face e orelhas. Brasil, 2006.

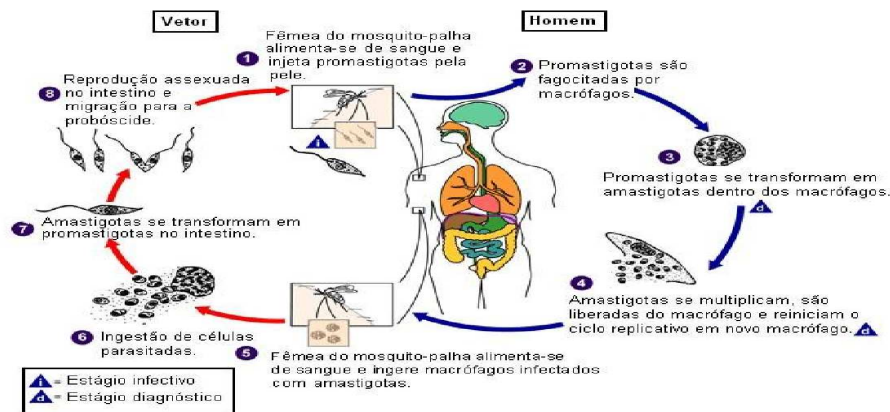


Figura 5: Ciclo da leishmaniose. Fonte: www.bioloja.com

### 2.2.2 As formas clínicas da Leishmaniose

A leishmaniose visceral (LV), que em algumas localidades é conhecida como calazar, é uma doença crônica grave (Gontijo & Melo, 2004). A LV tem alta letalidade e incidência principalmente em indivíduos imunossuprimidos, como as pessoas portadoras do vírus da imunodeficiência adquirida (HIV) ou indivíduos desnutridos. Seu período de incubação no homem pode variar entre 10 dias a 24 meses e no cão de 3 meses a vários anos, porém apenas uma pequena parcela de indivíduos infectados desenvolve sinais e sintomas da doença (Brasil, 2006). A sintomatologia no homem inclui sinais sistêmicos como febre prolongada, perda de peso, hepatomegalia, linfadenopatia, esplenomegalia, palidez cutâneo-mucosa, caquexia em variáveis graus (Ashford, 2000; Brasil, 2006; Romero & Boelaert,

2010). No cão a doença é geralmente sistêmica e crônica, e os sinais clínicos podem ser lesões cutâneas como descamação, eczema e pequenas úlceras, principalmente nas orelhas, focinho, cauda e articulações, Figura 4 (Brasil, 2006). Nos estágios mais avançados de LV podem ser vistos onicogrifose, esplenomegalia, linfadenopatia, ceratoconjuntivite, apatia, diarreia, emese e hiperqueratose (Brasil, 2006).

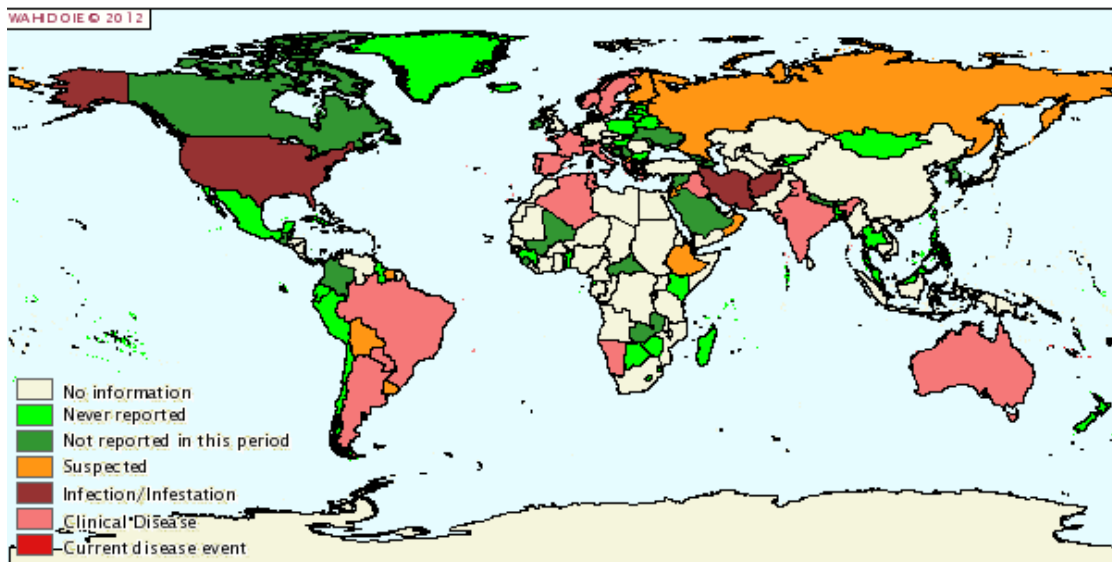
A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA), também conhecida como úlcera de Bauru ou ferida brava, é uma doença infecciosa, que afeta a pele e mucosas (Brasil, 2000). O período de incubação da doença pode variar de 2 semanas a 2 anos (Brasil, 2000). Inicia-se como uma lesão no local da picada, indolor e que não cicatriza, posteriormente essa lesão vai se alargando e pode haver rubor, mas não costuma haver infecção associada, é uma lesão com bordas elevadas em moldura, com fundo granuloso, podendo ou não haver exsudação (Ashford, 2000; Brasil, 2000). Pode haver necrose ou até cura da lesão. O resultado final vai depender da espécie de *Leishmania* causadora da infecção. Isto influencia também o tamanho da ferida, que pode variar de milímetros a centímetros de diâmetro (Ashford, 2000). Algumas espécies de *Leishmania* podem provocar lesões desfiguradoras (Ashford, 2000). As espécies de *Leishmania* associadas a infecções cutâneas não afetam órgãos internos, mas podem causar o aumento de linfonodos e lesões nos canais linfáticos (Ashford, 2000). Esta doença se manifesta mais frequentemente em pessoas com maior contato com áreas florestais, o que acarreta maior grau de exposição ao vetor flebotomíneo. A forma mucocutânea também começa no local da picada do vetor ou em mucosas próximas (Ashford, 2000). A

mucosa e a cartilagem a ela associada são erodidas, causando deformações (Ashford, 2000).

### 2.2.3 Distribuição da Leishmaniose

As leishmanioses ocorrem em 5 continentes e são consideradas endêmicas em mais de 88 países, destes 72 são considerados países em desenvolvimento (WHO, 2012). No que diz respeito aos animais, a Figura 6 mostra a distribuição mundial da leishmaniose em animais silvestres e domésticos no 1º semestre de 2011. A distribuição mundial das leishmanioses tegumentar e visceral humanas encontra-se nas figuras 7 e 8, em que se verifica sua distribuição predominante nas regiões tropicais.

Figura 6: Distribuição mundial das leishmanioses em animais silvestres de Janeiro a Junho de 2011. OIE, 2012.



Na década de 80 no Brasil, evidenciou-se uma ampliação na distribuição geográfica da Leishmaniose visceral (LV), a qual era antes restrita a áreas rurais da região nordeste, agora passou a atingir áreas urbanas, como a periferia de grandes centros (Gontijo & Melo, 2004). Atualmente a LV já se distribui por todas as regiões brasileiras, exceto a região Sul (Lainson & Rangel, 2005; Brasil, 2006).

Figura 7: Distribuição mundial da leishmaniose cutânea humana em 2009. WHO, 2012.

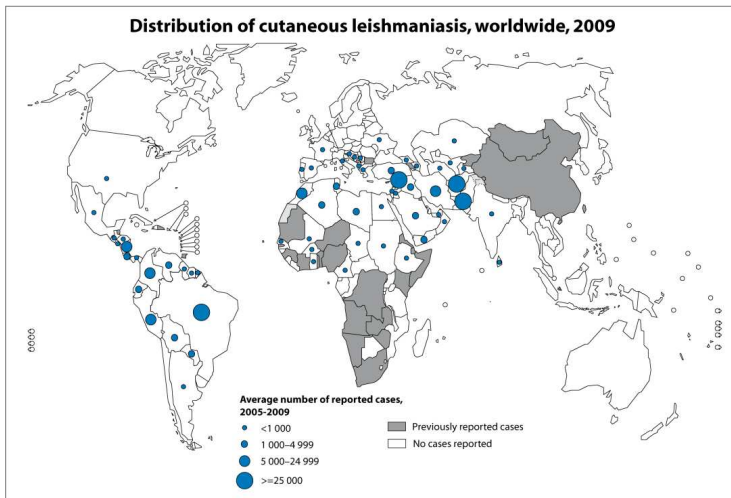
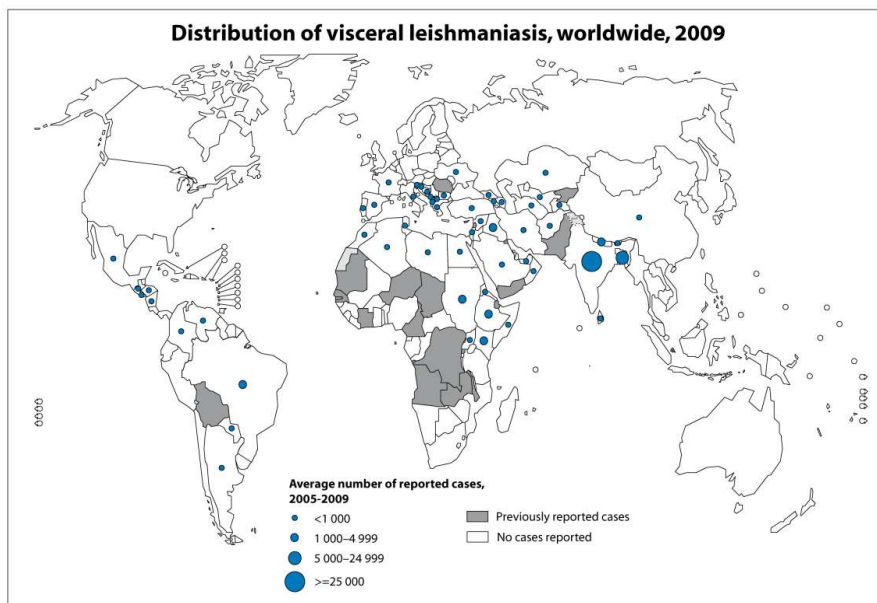


Figura 8: Distribuição mundial da leishmaniose visceral humana em 2009. WHO, 2012.



Segundo o Carranza-Tamayo et al (2010), o primeiro caso autóctone de LV no Distrito Federal foi em julho de 2005. Os mesmos autores também observaram que os casos da doença de 2005 a 2009 tendem a se concentrar na segunda metade de cada ano (71%), período que corresponde principalmente ao período de seca no Distrito Federal (maio-outubro). Destes casos que ocorreram no DF, 57% foram diagnosticados em crianças e a média de idade geral foi de 9 anos, a maioria era da região de Sobradinho (Carranza-Tamayo et al, 2010). Essa região de Brasília

tem a característica de ser formada por famílias que vieram de estados vizinhos em busca de emprego na capital, e podem ter trazido a doença com os cães (Carranza-Tamayo et al, 2010). Outra explicação para o surgimento da doença no DF está nos gráficos 2 e 3 em que se pode observar um pico, tanto de LV quanto de LTA, entre os anos 2005 a 2007. Isso pode ser explicado pelo aumento populacional vivido pelo DF neste período, que pode ser visualizado no Gráfico 1 e na consequente urbanização desenfreada resultando em fragmentação, degradação e destruição de habitats e ocupação de áreas silvestres. Todos estes fatores já foram apontados como geradores de surtos de doenças como a leishmaniose (Brasil, 2000; Brasil, 2006; Allan, Keesing e Ostfeld, 2003; Ostfeld & Keesing, 2000; Alves, 2011). Esta época de maior incidência de leishmaniose no DF também coincide com a política de doação de lotes praticada à época pelo governo. Esta política culminou com a criação do maior número de de cidades-satélites no DF até então, 13 no período; fato que correlaciona-se com o aumento populacional no DF visto no gráfico 1 (Alves, 2011).

Gráfico 2: Incidência de LT no DF de 1990 a 2010. Adaptado de Brasil, 2012.

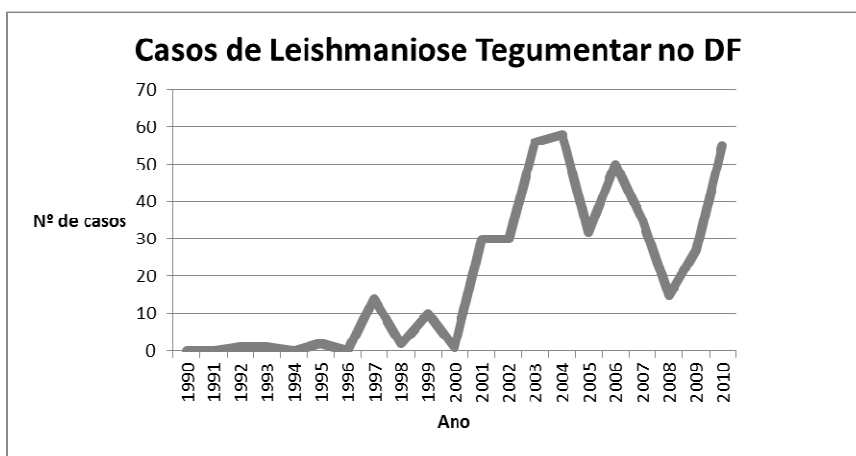
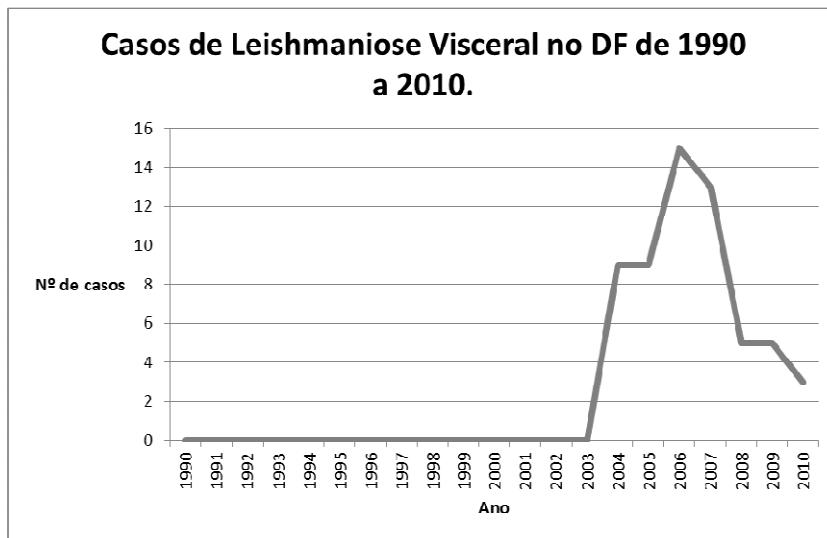


Gráfico 3: Incidência de LV no DF de 1990 a 2010. Adaptado de Brasil, 2012.



No mesmo período de anos observou-se o registro da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) em todas as regiões do país e o aumento do número de municípios afetados em cada região (Brasil, 2000). A Leishmaniose Visceral era considerada uma doença de regiões de baixo nível social, pobreza e promiscuidade (Brasil, 2006). Porém a recente urbanização da doença vem mudando esta característica devido ao intenso processo migratório, o exôdo rural, a urbanização crescente e a diminuição do espaço ecológico da doença, levaram à expansão das áreas endêmicas e o surgimento de novos focos, inclusive nos grandes centros urbanos (Brasil, 2006).

#### **2.2.4 Diagnóstico da Leishmaniose**

O diagnóstico conclusivo consiste em encontrar a forma amastigota do protozoário no tecido afetado, geralmente biópsia de pele ou aspirado de medula óssea, baço, fígado ou linfonodo (Ashford, 2000; Gontijo & Melo, 2004). Esse conteúdo pode ser utilizado para esfregaços ou lâminas de histologia, isolamento em meios de cultura ou inoculação em animais de laboratório (Gontijo & Melo, 2004). O problema nestas técnicas supracitadas é que um resultado negativo não significa

que o animal não esteja infectado, afinal a distribuição dos parasitas não é homogênea (Gontijo & Melo, 2004).

A Leishmaniose Visceral é marcada por uma estimulação policlonal de linfócitos B, que leva a uma hipergamaglobulinemia, e conseqüente, alta produção de anticorpos; o que faz dos testes sorológicos uma boa opção de diagnóstico (Gontijo & Melo, 2004). Diversas técnicas sorológicas vêm sendo usadas atualmente, com diferentes especificidades e sensibilidades. Sua desvantagem é que é comum ocorrerem reações cruzadas com outras doenças, e mesmo após o tratamento o teste pode permanecer positivo por um longo tempo (Ashford, 2000, Gontijo & Melo, 2004). No Brasil, os mais utilizados são RIFI e ELISA, que utilizam antígenos brutos e são limitados em termos de especificidade e sensibilidade (Gontijo & Melo, 2004). Há um teste imunológico que permanece negativo durante a maior parte do curso da LV, porém na LTA, a intradermoreação de Montenegro (IRM) é usada com eficácia, este teste traduz a resposta de hipersensibilidade celular retardada (Brasil, 2000).

Outra opção, cada vez mais utilizada hoje em dia são os métodos moleculares, hibridização com sondas específicas e amplificação de ácidos nucléicos, como reação em cadeia da polimerase (PCR) (Gontijo & Melo, 2004). Uma vantagem é que diferentes tipos de amostras biológicas, como aspirados de baço e medula óssea, sangue total, camada leucocitária e até mesmo tecidos como *punch* de pele podem ser usados como material para as reações (Gontijo & Melo, 2004). Esta técnica tem sido descrita como eficiente para a detecção do parasita,



independente da imunocompetência ou da história clínica do paciente (Gontijo & Melo, 2004).

#### **2.2.5 Tratamento da Leishmaniose**

O tratamento é bem caro e longo, as drogas de primeira escolha são compostos contendo antimônio pentavalente (Ashford, 2000). Como segunda opção tem-se anfotericina B, alopurinol, pentamicina, miltefosine ou monomidina (Ashford, 2000; Gontijo & Melo, 2004). O problema é que estes medicamentos são tóxicos, nem sempre efetivos e exigem um longo período de tratamento (Gontijo & Melo, 2004).

Para o tratamento de cães as drogas recomendadas são antimoniato de meglumine, combinado com alopurinol, ou pentamicina aminosidina (Noli & Auxilia, 2005). Embora o tratamento de cães seja permitido em alguns países poucas vezes se atinge a cura completa, com eliminação total do parasita (Ferrer et al, 1995). Além disso, as drogas usadas no tratamento humano são as mesmas recomendadas para o tratamento canino, por isso, o Ministério da Saúde (2006) não recomenda o tratamento de animais devido ao risco de selecionar parasitos resistentes aos medicamentos usados em humanos.

#### **2.2.6 Controle da Leishmaniose**

A Organização Mundial da Saúde recomenda: o rápido diagnóstico e o tratamento de humanos positivos, campanhas de educação sobre a doença, identificação rápida e de preferência, antes de possíveis surtos de epidemia e o combate ao vetor (WHO, 2012). Para a identificação da doença humana é importante um diagnóstico rápido e confiável, o que tem suas limitações, uma vez que não há teste com 100% de sensibilidade e especificidade, e grande parte dos

testes mais eficientes é de alto custo e exigem mão-de-obra especializada (Palatnik-de-Sousa & Day, 2011). Assim, o controle da leishmaniose canina tem sido eficiente para evitar surtos humanos (Palatnik-de-Sousa & Day, 2011).

O controle da Leishmaniose canina tem sido baseado no diagnóstico através de testes sorológicos e eutanásia de cães positivos (Brasil, 2006). Porém esta medida tem sido bastante discutida nos últimos anos (Palatnik-de-Sousa & Day, 2011). Afinal, embora haja comprovação de diminuir a incidência em humanos, tem se mostrado cada vez menos efetiva, principalmente se comparada a outros métodos de controle (Palatnik-de-Sousa & Day, 2011). E mesmo com a adoção maciça desta medida a leishmaniose brasileira não tem diminuído, inclusive devido à baixa sensibilidade dos testes diagnósticos, a demora entre a identificação do animal positivo e sua eutanásia e a recusa dos proprietários em respeitar tal medida (Lainson & Rangel, 2005; Brasil, 2006; Costa et al, 2007; Romero & Boelaert, 2010; Palatnik-de-Sousa & Day, 2011 ). Opções que têm sido apresentadas com comprovada eficácia para o controle da leishmaniose canina é o uso de vacinas e coleiras impregnadas com deltametrina que repelem o flebótomo (Giffoni et al, 2002; Lainson & Rangel, 2005; Palatnik et al, 2009; Palatnik-de-Sousa & Day, 2011).

O uso de inseticidas contra as formas adultas vem sendo feito desde 1940 no Brasil, já mostrou bons resultados no combate à malária e vem repetindo-os com a leishmaniose (Lainson & Rangel, 2005; Gontijo & Melo, 2004). Também é necessário para o combate ao vetor, levantar informações sobre quantidade e características dos flebotomíneos nas áreas endêmicas, e mesmo nas regiões silenciosas para evidenciar a presença do vetor, através da captura e estudos

entomológicos sobre o mesmo (Brasil, 2006). São importantes as medidas de proteção individual, como o uso de telas, repelentes e vestimenta comprida que proteja braços e pernas, não se expor nos horários de atividade do vetor (Brasil, 2000). No caso de trabalhadores e exploradores da floresta, deve-se atentar para a adequada destinação do lixo e acondicionamento de alimentos, para evitar a atração de reservatórios sinantrópicos e mesmo do vetor (Brasil, 2000). São de grande importância a adoção de medidas educativas em todos os âmbitos da sociedade, escola, hospital, postos de saúde, agentes de saúde; e a adequada capacitação das equipes responsáveis por tais medidas (Brasil, 2000).

O que é extremamente importante e não tem sido considerado nas campanhas de controle da doença é a ecologia da mesma, o comportamento de patógeno e hospedeiro no meio silvestre, que afetam e muito a sua epidemiologia em humanos. Há uma ideia clássica de erradicação das doenças transmitidas por vetores de que se eliminando o vetor e/ou os hospedeiros intermediários se consegue erradicar a doença, mas neste conceito esquece-se que na maioria destas doenças não há um hospedeiro intermediário único e definitivo, e que muitas vezes o uso de inseticidas para eliminação do vetor afeta todo o meio onde ele habita e muitas vezes são inviáveis (Schmidt & Ostfeld, 2001). É claro, que o combate ao vetor ou reservatórios dentro das áreas de domicílio humanas é importante, mas não deve ser a única estratégia usada e é preciso levar em consideração que se este combate afeta o habitat destes animais (Schmidt & Ostfeld, 2001). Assim, pode causar sérias alterações ecológicas, inclusive, aumentando o risco de infecção humana pela diminuição da biodiversidade, eliminando, o efeito de diluição que a mesma tem sobre tais doenças (Schmidt & Ostfeld, 2001).

### **2.3 Diversidade Biológica e o Efeito de Diluição**

A importância da diversidade de espécies em um determinado ecossistema tem sido amplamente discutida, com mais ênfase a partir da década passada devido ao aumento da ocupação humana, destruindo ou empobrecendo ecossistemas (Loreau et al, 2001). Porém, sabe-se que cada espécie tem a sua importância e função dentro do ecossistema, e até o conjunto de espécies desempenha um determinado papel na produção e sustentabilidade do mesmo (Ostfeld & Keesing, 2000; Tilman, Wedin & Knops, 1996). Logo, se esta diversidade cai independente da função específica de cada espécie, haverá alteração do meio como um todo (Ostfeld & Keesing, 2000; Tilman, Wedin & Knops, 1996).

A ecologia de comunidades silvestres também é importante no estudo de doenças, inclusive zoonoses, que têm como reservatórios ou hospedeiros, animais silvestres. Os ecologistas já concordam que a interação entre patógenos e hospedeiros pode influenciar a dinâmica e estrutura das comunidades silvestres (Rudolf & Antonovics, 2005). Patógenos podem alterar a competitividade e até mesmo determinar a coexistência ou extinção local de espécies hospedeiras do mesmo (McCallum & Dobson, 1995). Um bom exemplo é a entrada do morbilivirus da peste bovina na África subsaariana por volta de 1890 a 1899, que dizimou até 90% de algumas espécies de ungulados, e hoje há evidências de que a distribuição atual de muitas destas espécies teve influência da peste bovina (revisado por McCallum & Dobson, 1995). As doenças têm sido deixadas de lado em estudos sobre biologia de conservação, embora sejam de grande importância; isso ocorre

também pela dificuldade de acesso aos animais selvagens e porque os animais doentes não costumam ser vistos, pois são mais suscetíveis a predadores (McCallum & Dobson, 1995).

Atualmente, a biodiversidade tem sido bastante usada em modelos epidemiológicos de doenças infecciosas que acometem até mesmo o homem (Ostfeld & Keesing, 2000). De um lado, a diversidade de espécies pode impedir que apenas uma espécie se tornasse um reservatório importante e eficiente da doença; por outro lado, pode fazer com que o vetor ou o patógeno se tornassem generalistas, e independentemente da composição de espécies daquele ecossistema, estejam presentes e ofereçam maior risco à população humana (Ostfeld & Keesing, 2000). Esta não é uma ideia tão recente assim, há mais de 100 anos atrás já se sugeria uma conexão entre a diversidade de espécies e a disseminação de doenças transmitidas por vetores (WHO, 1982). Inicialmente as pesquisas propunham o que chamamos de “zooprofilaxia”, usar espécies animais próximos às habitações humanas para aumentar a diversidade de espécies em que o vetor pode se alimentar, e assim diminuir a infecção em humanos (revisado por Keesing, Holt & Ostfeld, 2006). E em 1985, começou-se a propor que a diversidade da comunidade poderia influenciar a incidência de doenças naquela região ou localidade, mais tarde este conceito foi melhorado e determinou-se o efeito de diluição (revisado por Keesing, Holt & Ostfeld, 2006). O termo “efeito de diluição” pode ter dois sentidos, um mais restrito, aplicado apenas às doenças transmitidas por vetores, cujas características principais são descritas abaixo; e um mais amplo, que abrange as doenças de modo geral, que se refere a qualquer alteração provocada pela diversidade de espécies que leve a redução da doença naquela

localidade (Keesing, Holt & Ostfeld, 2006; Dizney & Ruedas, 2009). Por exemplo, se uma maior diversidade diminui o encontro entre indivíduo suscetível e infectado, diminui também, a taxa de infecção (Keesing, Holt & Ostfeld, 2006).

Este trabalho desenvolveu-se sobre um modelo de transmissão de doenças por vetor, em que o vetor busca ativamente seus hospedeiros e compensa a diminuição de animais com vôos mais longos em busca de comida (Rudolf & Antonovics, 2005). Neste caso o aumento da diversidade, independente da densidade do reservatório mais competente, vai diminuir a prevalência da doença no vetor, porque ele terá uma maior opção de animais onde se alimentar, reduzindo seu encontro com o reservatório mais competentes, porém esta maior abundância de hospedeiros também pode aumentar a densidade do vetor naquela localidade (Schmidt & Ostfeld, 2001; Keesing, Holt & Ostfeld, 2006 ). A competência de cada reservatório pode ser determinada a partir de alguns parâmetros: (1) a suscetibilidade do hospedeiro à infecção, quando picado por um vetor infectado; (2) a habilidade do patógeno para se replicar e persistir no hospedeiro; e (3) a eficiência do hospedeiro em transmitir a infecção para outro vetor que se alimente nele (LoGiudice et al, 2003). Segundo Ostfeld e Keesing (2000), para que uma determinada doença se aplique ao efeito de diluição, é preciso que ela cumpra 4 requisitos: (1) os hábitos alimentares do vetor devem ser generalizados; (2) o patógeno deve ser transmitido ao vetor através de hospedeiros; (3) a competência do hospedeiro como reservatório da doença varia conforme as espécies; e (4) a espécie mais competente como reservatório tende a ser a mais dominante (Ostfeld & Keesing, 2000).

### 2.3.1 O exemplo da doença do Lyme

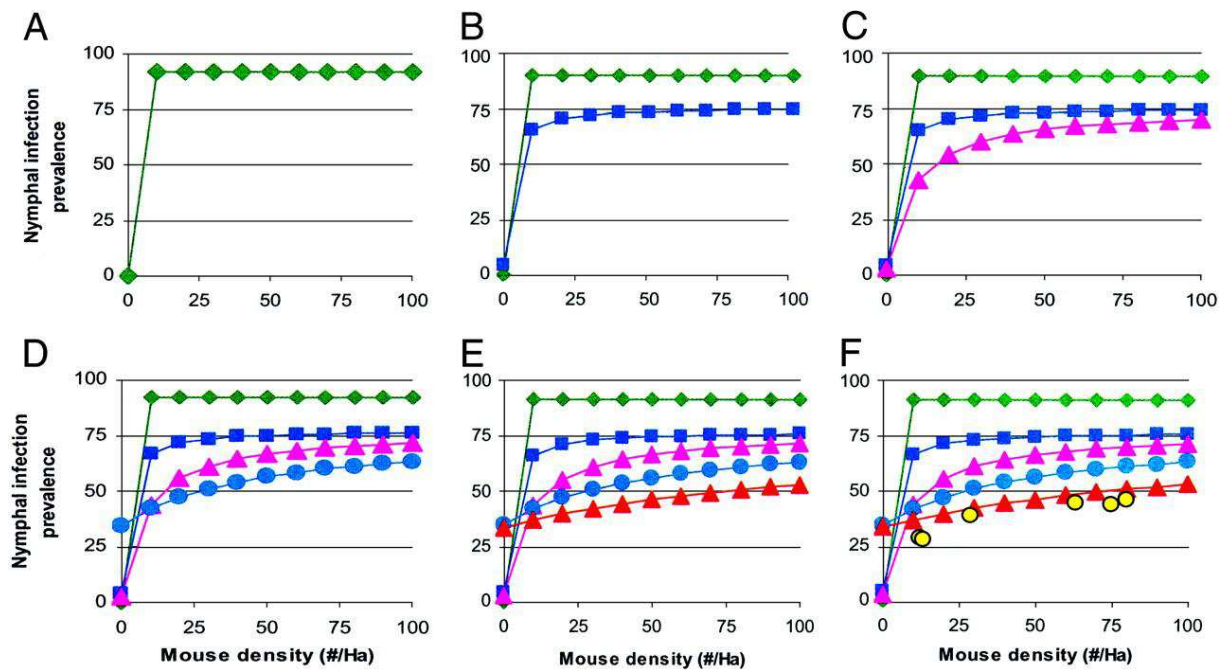
A principal doença usada como modelo para explicar o efeito de diluição é a doença do Lyme, provocada pela espiroqueta *Borrelia burgdorferi*, que tem como vetor principal o carrapato *Ixodes scapularis*, espécie generalista que se alimenta em diversas espécies de aves, répteis e mamíferos (Ostfeld & Keesing, 2000). Dos três estágios de desenvolvimento do *Ixodes*, as ninfas são consideradas as que mais comumente infectam humanos, assim, mede-se o risco de transmissão para humanos pela prevalência de infecção das ninfas (NIP) (LoGiudice et al, 2003 Ostfeld & Keesing, 2000; Allan, Keesing e Ostfeld, 2003). Outro índice que pode ser usado para mensurar o risco de transmissão da doença em uma determinada área é a Densidade de Ninfas Infectadas (DIN), que é o resultado da divisão entre a NIP e a densidade total de ninfas naquela localidade (LoGiudice et al, 2003). O principal reservatório natural no oriente da América do Norte é o “White-footed mouse” (*Peromyscus leucopus*) (Schmidt & Ostfeld, 2001). Essa espécie é considerada generalista, habitando tanto ecossistemas com grande diversidade de vertebrados, quanto pobres em espécies, sendo mais abundante em habitats menos diversos (Ostfeld & Keesing, 2000; Allan, Keesing e Ostfeld, 2003). Porém nas áreas com maior diversidade, a chance de o carrapato picar um roedor infectado é menor, pois há uma série de outros animais no ambiente onde o vetor pode fazer sua refeição sem tornar-se infectado, ou seja, a diversidade de espécies dilui o efeito do reservatório mais competente na transmissão da doença, diminuindo o risco de infecção humana (Ostfeld & Keesing, 2000).

LoGiudice et al (2003) aplicando modelagem para avaliar a contribuição de espécies de mamíferos e aves para a NIP e a competência como reservatório, perceberam que há uma grande variação interespecífica e que hospedeiros, que não o “White-footed mouse”, apresentaram uma competência variando entre 1,3 a 55% e uma redução da NIP a medida que se acrescentavam mais espécies (figura 11). Cada hospedeiro tem um efeito de diluição diferente, mas os melhores para diminuir o risco de transmissão da doença, são aqueles com alta densidade e baixa competência (LoGiudice et al, 2003).

Schmidt e Ostfeld (2001) encontraram uma proporção de ninfas infectadas em laboratório, se alimentando apenas no *Peromyscus leucopus* e no esquilo oriental (*Tamias striatus*), também considerado um reservatório competente, de 68,7% e para adultos de 96%. Quando esta mesma proporção foi calculada em carrapatos capturados na natureza esta proporção caiu para 37,6% em ninfas e 70,5% em adultos (Schmidt & Ostfeld, 2001). Estes valores mostram que no meio ambiente, a presença de outras espécies hospedeiras, porém pouco competentes, reduziu a porcentagem de carrapatos infectados, logo diminuiu o risco de transmissão da doença (Schmidt & Ostfeld, 2001).



Figura 9: NIP previsto em diferentes comunidades com diferentes números de hospedeiros. Comunidade consiste apenas de “white footed mouse” (diamantes verdes) (A); “white footed mouse”, esquilos e veados de cauda branca (quadrados azul escuro) (B); todos os hospedeiros de B mais guaxinins e gambás (triângulos rosa) (C); todos os hospedeiros em C, mais musaranhos de cauda curta e quatro espécies de aves de nidificação terrestre (luz círculos azuis) (D); todos os hospedeiros em D mais esquilos de árvores e musaranhos Sorex (triângulos vermelhos) (E); e dados de campo coletados em mais de 7 anos, mostrando a densidade do “white footed mouse” durante o pico de larvas em t anos e NIP para o anfitrião em busca de ninfas no ano t + 1 (círculos amarelos) (F). LoGiudice et al, 2003.



Assim, a proposta deste trabalho é mostrar que as leishmanioses podem se encaixar no modelo de efeito de diluição usado para a Doença do Lyme, a ideia é avaliar as consequências na região de estudo de se encontrar a *Leishmania* em uma ou todas as espécies de roedores apresentadas nesta revisão, uma com característica mais especialista e menos abundante (*Calomys tenner*) e outra mais generalista e mais abundante (*Necromys lasiurus*).

### 3 Discussão

A teoria do efeito de diluição já foi aplicada em uma série de doenças infecciosas, a que possui maior número de citações é, sem dúvida, a Doença do Lyme, usada como modelo por Ostfeld e Keesing (2000) para explicar tal teoria, posteriormente também foi estudada por LoGiudice et al (2003), Allan, Keesing e Ostfeld (2003), Schmidt e Ostfeld (2001). Disney e Ruedas (2009) e Carver et al (2001) testaram a incidência da hantavirose causada pelo Sin Nombre Vírus (SNV) em regiões com diferentes diversidades de espécies e também mostraram a presença de um efeito de diluição, em que as comunidades com maior diversidade apresentaram menor incidência da doença e o inverso ocorreu nas comunidades de menor diversidade. Por ser uma doença de transmissão através de contato direto, aqui a diversidade de espécies aumenta a competição na comunidade fazendo com que o hospedeiro competente, o “deer mouse” (*Peromyscus maniculatus*), gaste mais tempo à procura de recursos como alimento e abrigo, e tenha menos tempo para encontros interespecíficos em que a doença seria transmitida, este tipo de redução da interação interespecífica é chamado de “redução de encontro” (Disney & Ruedas, 2009).

Ezenwa et al (2006) verificaram a aplicação do efeito de diluição na alteração da prevalência de mosquitos infectados pelo vírus da febre do oeste do Nilo. Este vírus tem aves passeriformes como hospedeiros competentes e aves não-passeriformes como hospedeiros pouco competentes. Verificou-se que em ambientes com maior biodiversidade de não-passeriformes a incidência de mosquitos infectados era menor (Ezenwa et al, 2006).

Yahnke et al (2001) mostraram tal efeito para a hantavirose provocada pelo vírus Laguna Negra, cujo principal hospedeiro é o *Calomys laucha*. Esta espécie de

roedor generalista é mais abundante em áreas de agricultura dos chacos paraguaios, onde também houve uma maior prevalência da infecção pelo vírus no roedor. Para Doença de Chagas, Travi et al (1994) mostraram tal efeito na Colômbia, em que em áreas de floresta tropical úmida, com menor diversidade de mamíferos, o gambá (*D. marsupialis*), mostrou maior prevalência de infecção pelo protozoário, do que em florestas secas, que possuem maior diversidade de mamíferos.

Para que uma doença se encaixe no modelo de teoria da diluição usado para a Doença do Lyme, o primeiro ponto sugerido por Ostfeld e Keesing (2000) é que o vetor tenha hábitos alimentares generalizados. Diversos trabalhos (Johnson et al, 1993; Morrison, Ferro & Tesh, 1993; Quinnell, Dye & Shaw, 1992), mostraram que os flebotomíneos transmissores da leishmaniose podem se alimentar em uma grande variedade de mamíferos. O segundo ponto é que o patógeno seja transmitido ao vetor através dos hospedeiros e não haja transmissão entre vetores. Na leishmaniose, embora existam relatos de outras vias de transmissão, como venérea e através de transfusão sanguínea, a principal no ciclo epidemiológico da doença é a que inclui o flebotomíneo, e este se infecta ao picar um hospedeiro infectado, não havendo relatos de transmissão congênita no vetor (Brasil, 2006; Quinnell & Courtenay, 2009; Romero & Boelaert, 2010).

O terceiro requerimento de Ostfeld e Keesing (2000) é que a competência como reservatório varie conforme a espécie. No trabalho de Travi et al (2002), a *L. chagasi* foi identificada em *Didelphis marsupialis* e *Proechimys canicollis* em diferentes razões para cada espécie, além disso, diversas outras espécies foram encontradas nos mesmos locais, porém a *L. chagasi* não foi isolada nas mesmas.

Ashford (1996) relata uma prevalência de 30% em preguiças sendo mais comum a presença do parasita nas vísceras do que na pele. Em cães a prevalência é variável conforme a localidade, mas são importantes reservatórios pela proximidade com o homem e por ser mais comum a infecção assintomática, mantendo o parasita por mais tempo na população (Ashford, 2006). Na Jordânia, Saliba et al (1994) isolaram *Leishmania* na pele de 23% de *Psammomys obesus*, enquanto nas 5 outras espécies capturadas nada foi isolado. Em uma outra área de preservação do DF, Monteiro et al (dados não publicados) encontraram a prevalência da infecção em pequenos mamíferos variando de 1 a 9,3%. Enfim, a competência em transmitir a doença ao vetor varia conforme a espécie, afinal, algumas espécies manifestam doença clínica, morrendo mais rápido, logo mantendo o parasita na população por menos tempo; em outras o parasita têm preferência pelas vísceras, dificultando a transmissão para o vetor (Ashford, 1996).

E o último ponto: a espécie mais competente como reservatório tende a ser a mais dominante. Embora os estudos envolvendo ecologia e epidemiologia de reservatórios da leishmaniose sejam escassos, já há trabalhos mostrando que esta premissa também é verdadeira. Como o de Travi et al (1998), em que *D. albiventris* mostrou maior prevalência da doença e maior abundância em comparação com outras espécies de pequenos mamíferos capturadas e teve abundância ainda maior em áreas degradadas. Para leishmaniose cutânea na Jordânia, foi encontrado que o rato do deserto (*Psammomys obesus*) foi o roedor mais abundante e também o melhor reservatório para *Leishmania* spp (Saliba et al, 1994).

Embora Ostfeld e Keesing (2000) já tenham sugerido que a leishmaniose tem as características necessárias à aplicabilidade do efeito de diluição, não há trabalhos específicos para mostrar tal efeito em roedores hospedeiros, talvez pela dificuldade de se comprovar que um hospedeiro é mais eficiente que o outro. A técnica de PCR é uma boa opção para isolamento do parasita em fragmento de pele, mas como mostrado por Travi et al (2002 e 1998) o PCR negativo não significa que o animal não possa ser positivo, o ideal num trabalho que vise mostrar tal efeito é associar mais de uma técnica de diagnóstico como xenodiagnóstico, imunohistoquímica, inoculação em hamsters, cultura e isolamento do parasita, etc (Ostfeld & Keesing, 2000).

A cada dia novas doenças infecciosas emergem e o desafio de controlá-las é cada vez maior, pois muitas vezes identificar para erradicar o vetor ou o reservatório não é possível e muito menos desejável, especialmente em doenças que têm uma infinidade de hospedeiros associados e vetores com hábitos generalistas (Dizney & Ruedas, 2009). A profilaxia do vetor também é difícil, especialmente quando o mesmo se dispersa pelo ar e todos os indivíduos de uma região estão suscetíveis, desta forma o controle do ecossistema tem se mostrado uma medida eficiente de redução e controle de tais doenças, protegendo tanto a fauna silvestre, que muitas vezes também é ameaçada por tais agentes, quanto à população humana em áreas de risco (Dizney & Ruedas, 2009). Além disso, o efeito de diluição liga duas questões importantes: a conservação da natureza e a saúde pública e é uma forma de convencer a sociedade em geral a lutar pela conservação, pois traz um benefício mensurável para a população (Dizney & Ruedas, 2009).

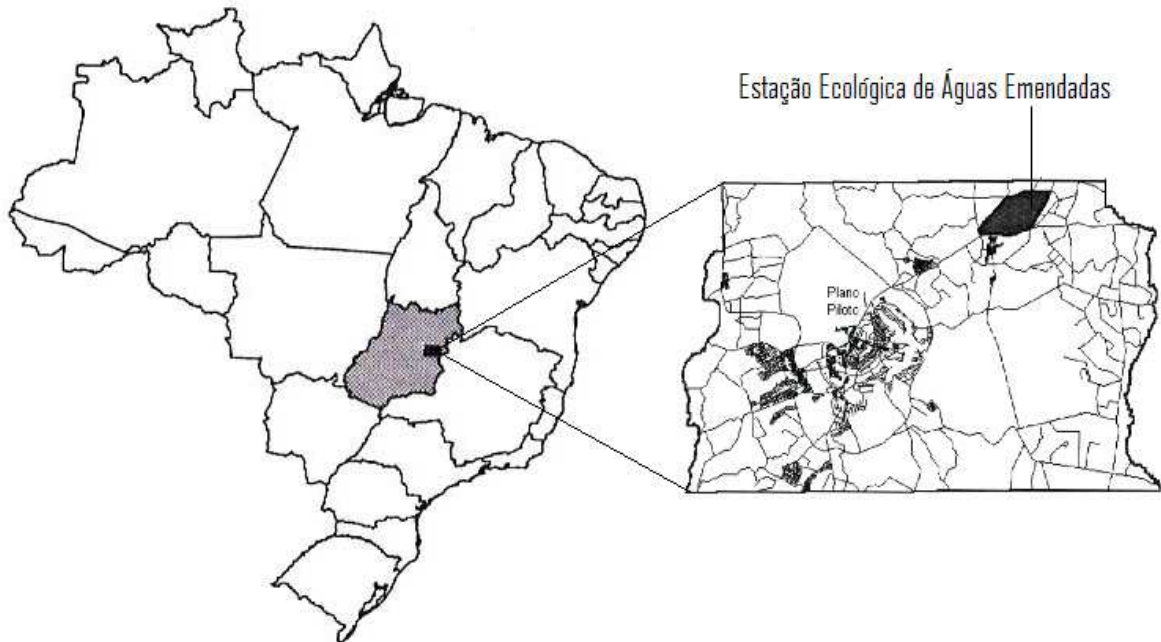
## 4. Anexo : Pesquisa de *Leishmania* em pequenos mamíferos da Estação Ecológica de Águas Emendadas

### 4.1 Material e Metodologia

#### 4.1.1 Área de Estudo

Este trabalho foi realizado na Estação Ecológica de Águas Emendadas (ESECAE). A Estação localiza-se na cidade de Planaltina, região nordeste do Distrito Federal, e é limitada pelos paralelos 15°32' e 15°38'S, ao sul e norte e pelos meridianos 47°33' e 47°37'W a leste e oeste. A figura 12 mostra a Estação no mapa do Distrito Federal e a localização dos *grids* onde se realizou a captura dos animais. No interior da Estação corre o divisor de águas das Bacias do Tocantins (Córrego Vereda e Rio Maranhão) e do Paraná (Córrego Brejinho e Rio São Batolomeu) (Rocha, 2007). Na ESECAE, uma das Unidades de Conservação mais importante do Brasil Central, estão representados os principais tipos de ambientes e fitofisionomias de cerrado do Distrito Federal (Rocha, 2007). A Estação Ecológica vem sofrendo também com a depredação e fragmentação de habitat, de 1984 a 2005, 21,53% da área natural do entorno da Estação foi convertida em área antrópica (Berlinck, 2008). Além de mostrarem esta diminuição da área natural, dados de Berlinck (2008) mostram que no entorno desta UC houve um aumento de 140,09% da área urbana, aumentando também a proximidade da população em relação a ESECAE e às espécies que ali habitam, bem como dos patógenos mantidos nas populações silvestres.

Figura 10: Localização da Estação Ecológica de Águas Emendadas em relação ao Brasil e ao DF (quadro ampliado). Rocha, 2011.



#### 4.1.2 Captura dos Animais

Foram utilizados dois *grids* de 135m X 135m, num total de 1,82 ha por *grid*, distando 1 km entre eles, ambos em áreas abertas de campos de cerrado com murundus. O *grid* 1 fica na localização 15°32'51"S e 47°36'55"W e possui rara presença de vegetação lenhosa, enquanto o *grid* 2 possui mais vegetação lenhosa e fica na localização 15°32'14"S e 47°36'46"W. Em cada *grid* foram determinadas 10 linhas paralelas, na medida do possível, e cada uma foi nomeada com uma letra de A a J. Em cada linha foram estabelecidos 10 pontos, distantes 15m um do outro, numerados de 1 a 10, totalizando 100 pontos de captura em cada área. Em cada *grid* foram colocadas 50 armadilhas *live traps* do tipo Sherman (250 x 80 x 90 mm), com iscas compostas por uma mistura de sardinha, pasta de amendoim, banana e fubá. As armadilhas eram dispostas nos pontos pares em uma linha e na seguinte, nos ímpares, assim em todas nos dois *grids*.

As capturas foram realizadas nos meses de maio e junho de 2012, as armadilhas permaneciam abertas durante a noite e eram vistórias ao amanhecer. A estação de captura, realizada em parceria com a equipe do professor da Universidade de Brasília, Jader Marinho-Filho, que já trabalha na área há mais de 9 anos, era de 5 noites por mês, porém optou-se por realizar as capturas para este trabalho em apenas 3 noites da estação de captura. Todos os roedores capturados foram identificados e marcados ou usando brincos numerados (National Band & Tags – Mod. 1005 – 1) ou com ablação de falange (no caso de *Calomys* sp. por serem menores). Todos foram pesados e sexados. Os indivíduos de *Calomys* sp. foram pesados com Pesola capacidade 30g divisão 0,25g e de *N. lasiurus* foram pesados com Pesola capacidade 100g divisão 1,0g. As medidas biométricas dos animais eram aferidas e registradas. Seguido à identificação e biometria era feita a colheita de material biológico, descrita no subitem subsequente, e após a completa recuperação da anestesia, os animais eram liberados nos pontos onde foram capturados.

#### **4.1.3 Espécies capturadas**

##### **4.1.3.1 *Necromys lasiurus***

São roedores distribuídos por todo o centro da América do Sul, se estendendo de Brasil e Paraguai para a Bolívia e para a província argentina de Misiones (Redford & Eisenberg, 1992; Redford & Eisenberg, 1999). No Brasil ocorrem em diversos biomas tais quais: Floresta Amazônica, Mata Atlântica, Chaco, Cerrado e Caatinga (Redford & Fonseca, 1986; Marinho-Filho et al, 1998). No bioma cerrado, ocorrem nas áreas de cerrado sentido restrito e em zonas de transição entre cerrado e campo úmido (Marinho-Filho et al, 1998). São um dos roedores mais abundantes



nestas áreas, principalmente em áreas de cerrado sentido restrito, com densidade média de 2 indivíduos por hectare (Alho et al, 1986; Henriques & Alho, 1991; Becker et al, 2007; Rocha, 2011). Também podem ser encontrados próximos ou mesmo dentro de habitações rurais (Alho et al, 1986). São considerados generalistas na escolha de habitats associado a uma preferência por áreas de baixa cobertura vegetal, porém que ofereça uma proteção à observação vertical por predadores (Henriques & Alho, 1991; Vieira, 2003; Vieira & Palma, 2005). Vieira et al (2005) mostraram optarem também por aqueles micro-habitats com maior disponibilidade de frutas e abrigos. Já Rocha (2011) na mesma área do presente estudo associou a espécie com áreas de gramíneas, murundus e árvores.

O adulto pesa entre 20 e 43g (Rocha, 2007), a pelagem é cinza, e há uma área circular mais clara ao redor dos olhos, a cauda é curta (Marinho-Filho et al, 1998; Eisenberg & Redford, 1992; Eisenberg & Redford, 1999). Na figura 9 pode se ver um indivíduo adulto, capturado durante o período de estudo. Possuem hábitos terrestres e noturnos e costumam se deslocar por uma distância média de 41,9 m diariamente (Marinho-Filho et al, 1998; Vieira et al, 2005; Rocha, 2011). Quanto à dieta, é uma das espécies de roedores do cerrado mais generalistas, isso sugere um extremo oportunismo no aproveitamento de recursos, que podem incluir pequenos invertebrados, diversas sementes e grãos de amido (Vieira, 2003). Em estudos sobre sua abundância ao longo do ano em cerrados do Brasil central, mostrou-se mais abundante de janeiro a abril, ou seja, durante a segunda metade da estação chuvosa no cerrado, com um decréscimo da população depois do mês de junho (Ribeiro & Marinho-Filho, 2005).



Foto: Arquivo Pessoal

Figura 11: *Necromys lasiurus* durante procedimento na ESECAE. Foto pessoal.

#### 4.1.3.2 *Calomys tenner*

É um dos menores roedores do Brasil, o adulto pesa em torno de 9-15g (Rocha, 2007). Distribuem-se nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Espírito Santo, Bahia, Goiás e o Distrito Federal (Bonvicino et al, 2008). Sua pelagem é castanho-acinzentada a castanho amarelada com presença de tufo branco logo atrás das orelhas, possuem hábitos estritamente noturnos (Figura 10) (Alho et al, 1986; Marinho-Filho et al, 1998; Bonvicino et al, 2008). Têm preferência por áreas abertas, principalmente campos úmidos próximos às matas de galeria, campos e cerrado sentido restrito (Alho et al, 1986). A área de vida pode variar de 787m<sup>2</sup> a 11700 m<sup>2</sup> e a densidade é de 0,66 indivíduos por hectare na área deste estudo (Rocha, 2011). Têm preferência por habitats com cobertura gramínea, que é inclusive uma importante fonte de recursos; mas são mais abundantes em áreas com mais montes de cupinzeiros do que grama, murundus, ou árvores (Rocha et al, 2011; Rocha, 2007). A captura de indivíduos jovens e sub-adultos é maior na estação seca do que na chuvosa (Rocha, 2011). Foram capturados

significativamente mais indivíduos em estágio reprodutivo no período chuvoso do que na seca (Rocha, 2011).

Figura 12: *Calomys tener* capturado na ESECAE. Rocha, 2011.



#### 4.1.4 Colheita de Material Biológico

Após a identificação e pesagem dos animais os mesmos eram anestesiados com quetamina 1% na dosagem de 50 mg/kg (Carpenter et al, 2000), em seguida eram colocados de volta no saco plástico em que haviam sido pesados, para aguardar o efeito da anestesia. Com uma tesoura desinfetada com álcool era retirado um pequeno fragmento da borda da orelha dos redores. Este fragmento era partido em dois e um pedaço era conservado em álcool 70% para análise de PCR e o outro em formol 10% para análise imunohistoquímica. Nos *N. lasiurus*, devido ao seu maior porte, era feita a coleta de sangue com uma seringa descartável de 1 ml através do plexo venoso caudo-bulbar. Com uma agulha hipodérmica penetrou-se na conjuntiva do canto medial do olho e a agulha foi rotacionada lentamente em direção ao interior da cavidade ocular, paralela ao globo ocular até que o sangue surgisse na seringa (van Herck et al, 2000), foi coletado um volume máximo de 1% do peso vivo do animal (figura 13). O sangue coletado era dividido entre um

microtubo de plástico tipo eppendorf heparinizado para realização de hemograma e um sem anticoagulante, para análises bioquímicas.

**Figura 13: Coleta de sangue de um *N. lasiurus* através do plexo venoso caudo-bulbar. Foto pessoal.**



#### **4.1.5 Análise do Material Biológico**

Os microtubos contendo material biológico (fragmento de orelha e sangue) eram acondicionados em uma caixa de isopor com gelo até chegarem aos laboratórios de patologia veterinária e de patologia clínica veterinária do Hospital Veterinária da Universidade de Brasília (HVET- UnB).

##### ***4.1.5.1 Sangue***

No sangue conservado sem anticoagulante eram separados plasma e células em uma centrífuga MSE Micro Centaur Sanyo a uma velocidade de 13000 rpm por 2 minutos. Em seguida o soro era separado e utilizado para a análise de proteínas totais e albumina e, quando possível, ALT e FA. O sangue conservado no microtubo heparinizado foi utilizado para realização de eritograma e leucograma. Os exames foram realizados com kit comerciais Labtest® e o uso de um Espectrofotômetro BIO 2000.

#### ***4.1.5.2 Reação em cadeia de polimerase (PCR)***

Os fragmentos de orelha conservados em álcool 70% foram submetidos à extração de DNA, seguindo-se as instruções do kit comercial: illustra tissue & cells genomicPrep Mini Spin Kit da empresa GE.

#### ***4.1.5.3 Imunohistoquímica***

Os fragmentos conservados em formol foram fixados em formol 10% e parafinados em blocos. Os blocos parafinados foram cortados, e as amostras foram fixadas em lâminas que passaram por 3 lavagens com xilol por 10 minutos cada uma. Em seguida foram desidratadas com álcool 100%, 96%, 80% e 70% por 2 minutos cada. A recuperação antigênica foi feita incubando-se as lâminas com tampão citrato pH 6,0. A peroxidase endógena foi inativada com Peroxidase Block (Novo Link). Foi incubada com anticorpo policlonal anti-leishmania na diluição de 1:200 *over night* a 4°C. Foi também incubada com Post Primary Block por 30 minutos e depois, incubada com polímero (Polymer-Novo Link e revelada com cromógeno DAB). Por fim, foi contra corada com hematoxilina, desidratada com álcool e lavada com xilol.

## **4.2 Resultados**

Foi coletado material biológico de 34 roedores ao longo dos 2 meses de trabalho, sendo 26 *N. lasiurus*, 1 *C. expulsus* e 7 *C. tenner*. Devido à limitação de tamanho dos animais, a coleta sanguínea foi possível em apenas 9 indivíduos de *N. lasiurus*.

### **4.2.1 Análise Sanguínea**

No total, foram realizados 8 hemogramas e 5 análises bioquímicas, porém a quantidade de sangue coletado não permitiu realizar todos as análises que compõem o hemograma ou as análises bioquímicas que se pretendiam realizar.

### **4.2.2 Análises Moleculares**

Os 34 roedores apresentaram-se negativos tanto no PCR quanto na imunohistoquímica.

### 4.3 Discussão

Como o número de amostras sanguíneas coletado foi pequeno, apenas 9, os resultados são pouco representativos da saúde de tais roedores da Estação Ecológica de Águas Emendadas e por isto não serão considerados nesta discussão. Embora os 34 fragmentos de pele analisados tanto para PCR, quanto para imunohistoquímica tenham se mostrado negativos à *Leishmania*, a pequena quantidade de amostras coletadas e o pouco tempo de duração deste estudo tornam pouco confiável afirmar, baseado apenas nestes resultados que não existe infecção por *Leishmania* nestas 3 espécies de roedores da ESECAE.

De acordo com a fórmula recomendada por Noordhuizen et al (1997) :

$$[1-(1-C)^{1/(D*SENS)}] * [M-(D*SENS-1)/2]$$

Onde:

C=grau de confiança

M= número de animais suscetíveis

D= Número de animais infectados

SENS= sensibilidade do teste.

Assumindo-se que a sensibilidade dos testes utilizados seja de 85%, e um grau de confiança de 95%, a prevalência mínima capaz de ser detectada na população amostrada (34 animais) é de 10%. No Distrito Federal, Monteiro et al (dados não publicados) encontraram a prevalência de leishmaniose em pequenos

mamíferos silvestres variando entre 1 a 9,3%, com média de 3,7%. A ausência de leishmaniose nos animais amostrados confirma apenas que a doença não existe nesta população em prevalência superior a 10%. Porém para se encontrar a real prevalência da doença nesta área são necessários estudos de maior duração, com maior número de animais capturados. Apesar dos resultados pouco conclusivos a proximidade da ESECAE com áreas urbanas (Berlinck, 2008), a presença de espécies de roedores na área de estudo com características de abundância e de escolha de habitats diferentes (Rocha, 2007; Rocha, 2011) e a presença da leishmaniose humana em regiões próximas à ESECAE (Carranza-Tamayo et al, 2010); permite propor que neste cenário a teoria do efeito de diluição possa ser aplicada e supor as alterações que a biodiversidade poderia realizar na incidência da doença, tanto nos roedores da Estação Ecológica, quanto nas populações humanas próximas à mesma.



#### **4.4 Conclusão**

O presente trabalho não conseguiu mostrar a presença da leishmaniose em roedores da ESECAE e nem a sua prevalência. Porém mostrou que na Estação Ecológica de Águas Emendadas tem-se as condições de diversidade de espécies e habitats e relações ecológicas entre as mesmas que permitem a realização de estudos em longo prazo para não apenas verificar a presença do parasita em pequenos mamíferos da região, como também a suas interações ecológicas com tais populações e as consequências para a incidência da doença em humanos.

## 5 Referências Bibliográficas

- ALHO, C.J.R.; L.A. PEREIRA & A.C. PAULA. 1986. Patterns of habitat utilization by small mammal populations in cerrado biome of central Brazil. *Mammalia*, Paris, 50(4): 447-460.
- ALLAN, B. F.; KEESING, F.; OSTFELD, R. S. Effect of Forest Fragmentation on Lyme Disease Risk. 2003. *Conservation Biology*, 17:267-272.
- ALVES, J.C.L. Ocupação urbana e impactos ambientais: Vicente Pires – o reverso da ocupação irregular em Brasília. 2011. 106p. Dissertação (mestrado em sociedade, tecnologia e meio ambiente). Centro Universitário de Anápolis-UniEvangélica. Anápolis, 2011.
- ASHFORD, R. W. The leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses. 2000 *International Journal for Parasitology*, no 30, pp. 1262-81.
- ASHFORD, R.W. 1996. Leishmaniasis reservoirs and their significance in control. *Clinics in Dermatology* 14: 523:532.
- BECKER, R.G.; PAISE, G.; BAUMGARTEN, L.C.; VIEIRA, E.M. 2007. Estrutura de comunidades de pequenos mamíferos e densidade de *Necromys lasiurus* (Rodentia, sigmodontinae) em áreas abertas de cerrado no Brasil central. *Mastozoología Neotropical*, 14(2):157-168.
- BERLINCK, C.N. 2008. Diagnóstico Sócio-Ambiental do Entorno da Estação Ecológica de Águas Emendadas (DF). Tese (doutorado em ecologia). Universidade de Brasília. Brasília, 2008.
- BONVICINO, C. R., LINDBERGH, S. M. & MAROJA, L. S. Small non-flying mammals from conserved and altered areas of atlantic forest and cerrado: comments on their potential use for monitoring environment. 2002. *Braz. J. Biol.*, 62(4B): 765-774.
- BONVICINO, C. R.; OLIVEIRA, J. A. & D'ANDREA, P. S. 2008. Guia dos Roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos. Rio de Janeiro, Centro Pan-Americano de Febre Aftosa. 120p.
- CARPENTER, J.W.; MASHIMA, T.Y.; RUPIPER, D.J. 2000. *Exotic Animal Formulary*. 2ª ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Co; 2000:196.
- CARRANZA-TOMAYO, C.O.; CARVALHO, M.S.L.; BREDT, A.; BOFIL, M.I.R.; RODRIGUES, R.M.B.; SILVA, A.D.; CORTEZ, S.M.F.C.; ROMERO, G.A.S. Autochthonous visceral leishmaniasis in Brasília, Federal District, Brazil. 2010. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 43(4): 396-399.
- CARVER, S.; KUENZI, A.; BAGAMIAN, K.H.; MILLS, J.N.; ROLLIN, P.E.; ZANTO, S.N. DOUGLASS, R. A temporal dilution effect: hantavirus infection in deer mice and the intermittent presence of voles in Montana. 2011. *Oecologia* 166: 713-721.
- COSTA, CH; TAPETY, CM; WERNECK, GL. 2007. Control of visceral leishmaniasis in urban areas: randomized factorial intervention trial. *Rev Soc Bras Med Trop*, 40:415-419
- DASZAK, P.; CUNNINGHAM, A.A.; HYATT, A.D. 2001 Anthropogenic environmental change and the emergence of infectious diseases in wildlife. *Acta Tropica* 78, no. 2 (February 23): 103-116.

- DIZNEY, L.J. & RUEDAS, L.A. Increased Host Species Diversity and Decreased Prevalence of Sin Nombre Virus. 2009. *Emerging Infectious Diseases*. Vol. 15, No. 7: 1012-1018.
- EISENBERG, J.F. & REDFORD, K.H. 1992. *Mammals of the Neotropics: the Southern Cone*. Chicago e Londres: The University of Chicago Press. Volume 2.
- EISENBERG, J.F. & REDFORD, K.H. 1999. *Mammals of the Neotropics: the Central Neotropics*. Chicago e Londres: The University of Chicago Press. Volume 3.
- EZENWA, V.O.; GODSEY, M.S.; KING, R.J.; GUPTILL, S.C. 2006. Avian diversity and West Nile virus: testing associations between biodiversity and infectious disease risk. *Proc R Soc Lond B Biol Sci.*;273:109–17.
- FERRER, L.; AISA, M.J.; ROURA, X.; PORTUS, M. Serological diagnosis and treatment of canine leishmaniasis. 1995. *Veterinary Record* ; 136:514-516.
- GIFFONI, JH; DE ALMEIDA,CE; DOS SANTOS, SO; ORTEGA, VS; DE BARROS, AT. 2002. Evaluation of 65% permethrin spot-on for prevention of canine visceral leishmaniasis: effect on disease prevalence and the vectors (Diptera: Psychodidae) in a hyperendemic area. *Vet Ther*, 3:485-492.
- GONTIJO, C.M.F. & MELO, M.N. 2004. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. *Rev. bras. epidemiol.* vol.7 no.3
- HENRIQUES, R. P. B. & ALHO, C.J. 1991. Microhabitat selection by two rodent species in the Cerrado of Central Brazil. *Mammalia*, 55(1): 49-56.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Censo Demográfico de 1957 a 2009. Brasília 2009. Disponível em: <[www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao)> Acesso em 20/12/12.
- IUCN. IUCN Red List of Threatened Species. 2012. Disponível em: <[www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)>. Acessado em 18 de dezembro de 2012.
- JOHNSON, R.N., NGUMBI, P.M., MWANYUMBA, J.P.; ROBERTS, C.R. 1993. Host feeding preference of *Phlebotomus guggisbergi*, a vector of *Leishmania tropica* in Kenya. *Med. Vet. Entomol.* 7: 216–218.
- KEESING, F.; HOLT, R.D.; OSTFELD, R.S. Effects of species diversity on disease risk. 2006. *Ecology Letters*. 9: 485–498
- KLINK, C.A. & MACHADO, R.B. A conservação do cerrado brasileiro. 2005. *Megadiversidade*, Volume 1, Nº 1 . p 147-155.
- LAINSON, R. & RANGEL, E.F. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil - a review. 2005. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* vol.100 no.8.
- LAINSON, R. Leishmânia e leishmaniose, com particular referência à região Amazônica do Brasil.1997. *Revista Paraense de Medicina* ; 11(1): 29-40.
- LOGIUDICE, K.; OSTFELD, R.S.; SCHMIDT, K.A. e KEESING,F. 2003. The ecology of infectious disease: effects of host diversity and community composition on Lyme disease risk. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 100:567–571.

- LOREAU, M.; NAEM, S.; INCHAUSTI, P.; BENGTSOON, J.; GRIME, J.P.; HECTOR, A.; HOOPER, D.U.; HUSTON, M.A.; RAFFAELLI, D.; SCHMID, B.; TILMAN, D.; WARDLE, D.A. 2001. Biodiversity and ecosystem functioning: current knowledge and future challenges. *Science*, 294, 804–808.
- LUKES, J.; MAURICIO, I.L.; SCHONIAN, G.; DUJARDIN, J.C.; SOTERIADOU, K.; DEDET, J.P.; KUHLS, K.; TINTAYA, K.W.Q.; JIRKU, M.; CHOCHOLOVÁ, E.; HARALAMBOUS, C.; PRATLONG, F.; OBORNÍK, M.; HORÁK, A.; AYALA, F.J.; MILES, M.A. Evolutionary and geographical history of *the Leishmania donovani* complex with a revision of current taxonomy. 2007. *PNAS* vol. 104. no. 22.
- MACHADO, R.B.; RAMOS NETO, M.B.; PEREIRA, P.G.P.; CALDAS, E.F.; GONÇALVES, D.A.; SANTOS, N.S.; TABOR, K.; e STEININGER, M. 2004. Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro. Relatório técnico não publicado. Conservação Internacional, Brasília, DF.
- MACHADO, R.B., RAMOS NETO, M.B.; HARRIS, M.B.; LOURIVAL, R.; AGUIAR, L.M.S. 2004'. Análise de lacunas de proteção da biodiversidade no Cerrado. In: Anais IV Congresso Brasileiro de Unidades de Conservação. pp. 29-38. Fundação O Boticário de Proteção à Natureza, Curitiba, Brasil.
- MALTA, M.C.C.; TINOCO, H.P.; XAVIER, M.N.; VIEIRA, A.L.S.; COSTA, E.A.; SANTOS, R.L. Naturally acquired visceral leishmaniasis in non-human primates in Brazil. 2010. *Veterinary Parasitology* 169 193–197.
- MARES, M.A.; ERNEST, K. A. & GETTINGER, D. 1986. Small mammal community structure and composition in the Province of Central Brazil. *Journal of Tropical Ecology*, 2(4): 289-300.
- MARINHO-FILHO, J. S.; RODRIGUES, F. H. G.; GUIMARÃES M. M. & REIS, M. L. 1998. Os mamíferos da Estação Ecológica de Águas Emendadas, Planaltina, DF. p. 34-63. In: Marinho - Filho, J. S.; Rodrigues, F. H. G.; Guimarães M. M. (Eds.). Vertebrados da Estação Ecológica de Águas Emendadas: História Natural e Ecologia em um fragmento de cerrado do Brasil Central. Governo do Distrito Federal, Brasília, 92p.
- MARINHO-FILHO, J.; RODRIGUES, F. H. G. & JUAREZ, K. M. 2002. The cerrado mammals: diversity, ecology, and natural history. Pp. 267-284. In: Oliveira, P. S. & Marquis, R. J. The cerrado of Brazil. Editora Columbia University, Nova Iorque, 398p.
- MCCALLUM, H., & DOBSON, A. Detecting disease and parasite threats to endangered species and ecosystems. 1995. *Trends in Ecology & Evolution* 10:190–194.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Portal da Saúde. Brasília, 2012. Disponível em <<http://portal.saude.gov.br>> Acesso em 15/01/13
- BRASIL, Ministério da Saúde. Manual de Controle da Leishmaniose Tegumentar Americana. 5 ed. Normas e Manuais Técnicos. Brasília-DF. 2000. 62p.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. 1 ed., série A. Normas e Manuais Técnicos. Brasília-DF. 2006. 62 p.
- MORRINSON, A.C.; FERRO, C.; TESH, R.B. 1993. Host preferences of the sand fly *Lutzomyia longipalpis* at an endemic focus of American Visceral Leishmaniasis in Colombia. *Am J Trop Med Hyg* 49: 68-75.
- MYERS, N.; MITTERMEIER, R. S.; MITTERMEIER, C. G.; FONSECA, G. A. B. & KENT, J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403: 853- 858.

- MYERS, P. 2000. "Rodentia" (On-line), Animal Diversity Web. Disponível em: <<http://animaldiversity.ummz.umich.edu/accounts/Rodentia/>>. Acessado em 03/11/12.
- NOLI, C. & AUXILIA, S.T. 2005. Treatment of canine Old World visceral leishmaniasis: a systematic review. *Veterinary Dermatology*, 16: 213–232.
- NOORDHUIZEN, J.P.T.M.; FRANKENA, K.; van der HOOF, C.M; GRAAT, E. 1997. Application of Quantitative Methods in Veterinary Epidemiology. Wageningen Pen. The Netherlands, pp 50.
- OSTFELD, R.S. & KEESING, F. 2000. The function of biodiversity in the ecology of vector-borne zoonotic diseases. *Can. J. Zool.* 78: 2061–2078.
- PALATNIK-DE-SOUSA, CB & DAY, MJ. One Health: The global challenge of epidemic and endemic leishmaniasis. 2011. *Parasites & Vectors*, Vol.4, p.197-197.
- PALATNIK-DE-SOUSA, C.B; SILVA-ANTUNES, I.; MORGADO, A.A.; MENZ, I.; PALATNIK, M.; LAVOR, C. Decrease of the incidence of human and canine visceral leishmaniasis after dog vaccination with Leishmune® in Brazilian endemic areas. *Vaccine* 2009, 27:3505-3512
- PALMER, S.; BROWN, D.; MORGAN, D. 2005. Early qualitative risk assessment of the emerging zoonotic potential of animal diseases. *British Medical Journal*. p. 331.
- POOR, A. 2005. "Cricetidae" (On-line), Animal Diversity Web. Disponível em: <<http://animaldiversity.ummz.umich.edu/accounts/Cricetidae/>>. Acessado em 21/10/12.
- QUINNELL, R.J. & COURTENAY, O. Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis. 2009. *Parasitology*, 136, 1915–1934.
- QUINNELL, R.J.; DYE, C. & SHAW, J.J. Host preferences of the phlebotomine sandfly *Lutzomyia longipalpis* in Amazonian Brazil. 1992. *Medical and Veterinary Entomology* 6, 195-200.
- REDFORD, K. H. & FONSECA, G. A. B. 1986. The role of gallery forests in the zoogeography of the Cerrado's non-volant mammalian fauna. *Biotropica*, 18(2): 126 -135.
- RIBEIRO, R. & MARINHO-FILHO, J. 2005. Estrutura da comunidade de pequenos mamíferos (Mammalia, Rodentia) da Estação Ecológica de Águas Emendadas, Planaltina, Distrito Federal, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* 22 (4): 898–907.
- ROCHA, C. R. *Utilização de micro-habitat por três espécies de roedores cricetídeos em um cerrado do Brasil central*. 2007. 46p. Dissertação (mestrado em ecologia) – Departamento de Ecologia, Universidade de Brasília, Brasília. 2007.
- ROCHA, C.R. Dinâmica Populacional de Roedores de um Cerrado do Brasil Central. 2011. 144p. Tese (doutorado em ecologia)- Departamento de Ecologia, Universidade de Brasília, Brasília. 2011.
- ROCHA, C.R.; RIBEIRO, R.; TAKAHASHI, F.S.C.; MARINHO- FILHO, J. 2011. Microhabitat use by rodent species in a central Brazilian cerrado. *Mammalian Biology* 76 (2011) 651–653.
- ROMERO, G.A. & BOELAERT, M. Control of visceral leishmaniasis in Latin America – a systematic review. 2010. *PLoS Negl Trop Dis*, 4:e584
- ROMERO, M.A.B. As Características do lugar e o planejamento de Brasília. 2003. *Espaço & Geografia*, Vol.6, No 2, 31:58.

- RUDOLF, V.H.W. & ANTONOVICS, J. Species Coexistence and Pathogens with Frequency-Dependent Transmission. 2005. *Am. Nat.* 2005. Vol. 166, pp. 112–118.
- SALIBA, E.K.; DISI, A.M.; AYED, R.E.; SALEH, N.; AL-YOUNES, H.; OUMEISH, O.; AL-OURAN, R. 1994. Rodents as reservoir hosts of cutaneous leishmaniasis in Jordan. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 88: 617–622.
- SAVANI, E.S.M.M.; ALMEIDA, M.F.; CAMARGO, M.C.G.O.; D'AURIA, S.R.N.; SILVA, M.M.S.; OLIVEIRA, M.L.; SACRAMENTO, D. Detection of *Leishmania (Leishmania) amazonensis* and *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* in Brazilian bats. 2010. *Veterinary Parasitology* 168 5–10.
- SCHMIDT, K. A. & OSTFELD, R.O. 2001. Biodiversity and the dilution effect in disease ecology. *Ecology* 82:609–619.
- TILMAN, D., WEDIN, D., KNOPS, J. 1996. Productivity and sustainability influenced by biodiversity in grassland ecosystems. *Nature (Lond.)*, 379: 718–720.
- TRAVI, B.L., JARAMILLO, C., MONTOYA, J., SEGURA, I., ZEA, A., GONÇALVES, A., VELEZ, I.D. 1994. *Didelphis marsupialis*, an important reservoir of *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* and *Leishmania (Leishmania) chagasi* in Colombia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 50: 557–565.
- TRAVI, B.L.; ARTEAGA, L.T.; LEON, A.P.; ADLER, G.H. 2002. Susceptibility of spiny rats (*Proechimys semispinosus*) to *Leishmania (Viannia) panamensis* and *Leishmania (Leishmania) chagasi*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 97: 887-892.
- TRAVI, B.L.; OSORIO, Y.; BECERRAL, M.T.; ADLER, G.H. 1998. Dynamics of *Leishmania chagasi* infection in small mammals of the undisturbed and degraded tropical dry forests of northern Colombia. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* (1998) 92, 275-278.
- Van HERCK, H.; BAUMANS, V.; BOERE, H. A. G.; HESPL, A. P. M.; van LITH, H. A.; BEYNEN, A.C. Orbital sinus blood sampling in rats: effects upon selected behavioural variables. *Laboratory Animals* (2000) 34. 10-19.
- VIEIRA, E. M.; IOB, G.; BRIANI, D. C. & PALMA, A. R. T. 2005. Microhabitat selection and daily movements of two rodents (*Necromys lasiurus* and *Oryzomys scottii*) in Brazilian Cerrado as revealed by a spool-and-line device. *Mammalian Biology* , 70(6): 359-365.
- VIEIRA, E.M. & PALMA, A.R.T. 2005. Pequenos mamíferos de Cerrado: distribuição dos gêneros, estrutura das comunidades nos diferentes habitats. Pp. 265-282, em: Cerrado: ecologia, biodiversidade e conservação (A Scariot, JM Felfili e JC Sousa-Silva, eds.). Ministério do Meio Ambiente, Brasília.
- VIEIRA, M.V. 2003: Seasonal Niche Dynamics in Coexisting Rodents of the Brazilian Cerrado, *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 38:1, 7-15.
- World Health Organization (WHO). Leishmaniasis – Burden of disease. 2012. Disponível em: < <http://www.who.int/leishmaniasis/burden/en> > Acessado em 03/12/12.
- World Health Organization (WHO). Manual on Environmental Management for Mosquito Control, with Special Emphasis on Malaria Vectors. 1982. Geneva.

World Organization for Animal Health (OIE). Disease information,disease distribution map. 2012.  
Disponível em:  
<[http://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseasedistributionmap](http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseasedistributionmap)>  
Acessado em: 03/12/12.

YAHNKE, C.J.; MESERVE, P.L.; KSIAZEK, T.G. & MILLS, J.N. 2001. Patterns of infection with Laguna Negra virus in wild populations of *Calomys laucha* in the central Paraguayan chaco. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 65, 768–776.