

SABRINA DE BASTOS ALVES DA SILVA

**Epidemiologia e controle da leishmaniose visceral:
estudo de coorte de cães em áreas endêmicas no
município de Bauru no Estado de São Paulo.**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Coordenadoria de
Controle de Doenças da Secretaria
de Estado da Saúde de São Paulo,
para obtenção do Título de Mestre em
Ciências

**Área de Concentração: Pesquisas
Laboratoriais em Saúde Pública**

Orientador: Prof^o. Dr^o. José Eduardo Tolezano

São Paulo

2017

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pelo Centro de Documentação – Coordenadoria de Controle de Doenças/SES-SP

©reprodução autorizada pelo autor, desde que citada a fonte

Silva, Sabrina de Bastos Alves da.

Epidemiologia e controle da leishmaniose visceral: estudo de coorte de cães em áreas endêmicas no município de Bauru no Estado de São Paulo. / Sabrina de Bastos Alves da Silva. – 2017.

Dissertação (Mestrado em Ciências) - Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças, São Paulo, 2017.

Área de concentração: Pesquisas Laboratoriais em Saúde Pública.
Orientação: Prof. Dr. José Eduardo Tolezano.

1. Leishmaniose Visceral/parasitologia. 2. Leishmania infantum/parasitologia. 3. Cães/parasitologia. 4. Inquéritos epidemiológicos/estatística & dados numéricos. 5. Vigilância epidemiológica/estatística & dados numéricos. 6. Epidemiologia/estatística & dados numéricos.

SES/CCD/CD-359/2017

Dedicatória

Dedico aos meus pais Ronaldo (in memorian) e Maria Alice que sempre serão as pessoas mais importantes da minha vida, a quem tenho grande admiração, amor e carinho!!

Estiveram sempre me incentivando quando havia momentos de dúvidas, dizendo que alguns desafios que encontramos em nosso caminho fazem parte e que vencê-los nos deixa mais forte e madura.

Além do apoio e carinho, tenho que agradecer pela pessoa que sou hoje, devido seus ensinamentos, amor e compreensão.

Mesmo que meu pai não esteja mais aqui, só tenho agradecer por tudo que ele fez por mim na sua vida, por toda dedicação, ensinamentos, lições de vida, força, ir atrás dos meus sonhos e de não desistir nem no ultimo minuto. Uma grande pessoa que levo em minha memória como exemplo junto com as lindas lembranças.

Minha mãe que é a pessoa mais doce e linda que existe! Uma pessoa o qual é difícil descrever o grande amor que tenho por ela! Ela sempre foi não apenas minha mãe e também minha melhor amiga! Ela é minha outra parte, eu só tenho agradecer por todo amor e aprendizado, por estar comigo em todos os momentos. Você completa minha vida, meu porto seguro!

Hoje e sempre, vou ter uma linda lembrança dos meus pais, e meu carinho por eles é infinito. Pai e mãe, vocês são os melhores presentes que alguém pode ganhar, obrigado por tudo e fico feliz de Deus ter colocado vocês na minha vida!

E não podia deixar dedicar também para meus três bebes felinos Lilly, Kate e Alex que sempre estiveram comigo durante essa jornada com seu amor incondicional!

Obrigada!!!

Agradecimentos

Primeiro gostaria de agradecer a Deus, por ter me dado força e fé para concluir essa etapa da minha vida.

Agradeço aos meus pais por todo carinho e a concretização dessa etapa da minha vida.

Agradeço ao meu querido orientador José Eduardo Tolezano, por todo aprendizado, ensinamentos, conhecimentos, compreensão e amizade. Obrigado por compreender e pela paciência em todos os momentos em que tive dificuldade, me incentivando e mostrando qual era o melhor caminho a seguir. Com sua orientação eu tive um grande crescimento profissional e pessoal. Obrigado por me ajudar a concluir essa etapa e pela evolução do meu crescimento durante o mestrado. Para mim você foi além de orientador, um amigo, muitas vezes até pai. Fico muito feliz ter tido essa oportunidade de obter esse título de mestra tendo você com meu orientador e fico feliz de ter cruzado com você nesse meu momento de aprendizado e aprender tantas coisas que levo pra vida.

Agradeço ao Antonio Marcos Aparecida Levy que foi meu supervisor no meu aprimoramento profissional e se transformou em um grande amigo. Muito obrigada por me ajudar, porque foi através de você que eu consegui a oportunidade de realizar o mestrado. Obrigada por toda ajuda, pela companhia e pela sua amizade!

Agradeço ao Roberto Mitsuyoshi Hiramoto por todo aprendizado, ensinamentos, conhecimento pela ajuda em alguns momentos, além das risadas e brincadeiras.

Agradeço a À Helena H. Taniguchi por todo aprendizado, ensinamentos, conhecimento e pela ajuda em alguns momentos que estava em dúvida.

Agradeço à Katia Castellão pela colaboração, por toda ajuda, pelos chás, de ficar até mais tarde quando estava terminando minha dissertação, pela cia, risadas e conversas jogadas fora!

Agradeço a todos da parasitologia sistêmica pela colaboração, ensinamentos e amizade!

Agradeço as minhas amigas Ana Paula, Brunna e Gabriela pelas palavras de apoio de cada uma de vocês, pelo estímulo, pela amizade, pelas risadas. Eu só tenho a agradecer por vocês estarem comigo por todo esse período.

Obrigada!!!

Resumo

Nas últimas três décadas a leishmaniose visceral (LV) tem expandindo para os grandes centros urbanos no Brasil. Dentre os fatores que contribuíram para esta urbanização, encontram-se as dificuldades na execução das medidas de controle, principalmente aquelas relacionadas ao reservatório canino além da ineficiência no controle vetorial. As estratégias de controle não têm sido capazes de impedir a expansão geográfica e nem reduzir a incidência e letalidade da LV. O controle do reservatório canino é o componente mais efetivamente trabalhado, sendo os cães domésticos incriminados como a principal fonte de infecção e reservatório de *L. infantum chagasi* em ambientes endêmicos urbanos devido a sua proximidade com os humanos. Na cidade de Bauru, desde 2002 a LV é um grande desafio para os serviços de saúde pública, estando entre os municípios com maior disseminação dos focos naturais de transmissão e produção de novos casos da LV humana. No presente estudo, em diferentes bairros de Bauru foram aplicadas distintas estratégias para a identificação e controle dos reservatórios caninos de *L. infantum chagasi* em áreas endêmicas para a leishmaniose visceral com a realização de inquéritos semestrais e anuais e a ação com um intervalo máximo de 20 dias entre a coleta da amostra de sangue, realização do diagnóstico laboratorial, emissão do laudo com os resultados e, posterior recolhimento e eutanásia dos animais soropositivos. No presente estudo, foram constituídas coortes de cães, para avaliar: a. As taxas de prevalência, incidência e soroconversão no diagnóstico da LV canina; b. A efetividade das estratégias para a identificação semestral ou anual dos reservatórios caninos de *L. infantum chagasi* na redução da prevalência da infecção canina; c. As taxas de entrada e reposição canina; d. Riscos para LV canina, decorrente do tempo de exposição no ambiente endêmico ou pelo número de cães nos domicílios; e. Análise ambiental para a identificação da presença de fatores de risco nos domicílios com cães infectados. Nos bairros Santa Terezinha e Parque Manchester foram realizados inquéritos sorológicos semestrais e nos bairros Parque Vanuire e

Jardim Helena inquéritos sorológicos anuais para a identificação dos cães infectados e determinação das diferentes taxas. Análise estatística não revelou diferenças significativas para nenhuma das variáveis categóricas, sexo, faixa etária, porte do animal, tamanho do pelo, sinais clínicos, quando considerados os resultados globais, para o conjunto dos quatro bairros. Quando da análise das condições de realização de inquéritos semestrais e anuais, não foi possível identificar diferenças entre as duas condições de realização da prospecção da infecção na população canina. Foram observadas diferenças significativas em relação ao ingresso e a reposição canina, respectivamente, em inquéritos subsequentes e em situação de prévio recolhimento de cães soropositivos. Nos bairros Santa Terezinha e Parque Manchester, a diminuição no intervalo de tempo entre inquéritos propiciou rápida e drástica redução na prevalência da infecção canina, por volta do décimo oitavo mês do estudo, entretanto retornou aos valores anteriores nos meses que se seguiram, sendo identificada a importância do permanente ingresso de novos animais e da reposição de animais infectados. Foi verificado limitado risco para LV canina em razão do tempo de exposição no ambiente endêmico. Foi observado que domicílios com mais de dois cães apresentam risco para LV canina cerca de 2,5 (duas vezes e meia) maior do que imóveis com um ou dois animais. Estes resultados fortalecem do ponto de vista operacional, a estratégia de busca ativa da infecção canina em intervalos de doze meses.

Palavras chave: Leishmaniose Visceral; *Leishmania infantum*; Cães; Inquéritos Epidemiológicos, Vigilância Epidemiológica, Epidemiologia

Abstract

In the last three decades, visceral leishmaniasis (VL) has expanded to large urban centers in Brazil. Among the factors that contribute to this urbanization, difficulties in the execution of control measures, especially those related to the reservoir are considered besides the inefficiency in vector control. Control strategies have not been able to prevent geographical expansion or reduce the incidence and lethality of VL. The control of the canine reservoir is the most effectively worked component with domestic dogs being the main source of infection and reservoir of *L. infantum chagasi* in urban endemic environments due to its proximity to humans. In the city of Bauru, VL has been a major challenge for public health services since 2002, and it is among the municipalities with the greatest dissemination of natural outbreaks of transmission and production of new cases of human VL in Brazil. In the present study, different strategies for the identification and control of canine reservoirs of *L. infantum chagasi* in areas endemic for visceral leishmaniasis were applied in different Bauru neighborhoods, including semiannual or annual serological surveys, interval of 20 days since blood samples collection until delivery of results and arrest and culling dogs. Dogs cohorts were formed to evaluate: a. Prevalence, incidence and seroconversion rates in the diagnosis of canine VL; b. The effectiveness of the strategies for the six-month or annual identification of canine reservoirs of *L. infantum chagasi* in reducing the prevalence of canine infection; c. Canine entry and replacement rates; d. Risks to canine VL, due to the time of exposure in the endemic environment or by the number of dogs in the household; e. Environmental analysis to identify the presence of risk factors in households with infected dogs. In Santa Terezinha and Manchester Park neighborhoods was did semi - annual serological surveys and the neighborhoods of Vanuire and Jardim Helena with annual serological surveys to identify infected dogs and determination of prevalence rates. Statistical analysis reveal no significant differences for any of the categorical variables, sex, age, animal size, hair size, clinical signs, when considering the overall

results, for all four neighborhoods. When analyzing the conditions for conducting semi-annual and annual surveys, it was not possible to identify differences between the two prospective infection conditions in the canine population.

When analyzing the conditions of semi-annual and annual surveys, significant differences were observed in relation to the entry and the canine replacement, respectively, in subsequent surveys and in the situation of previous collection and culling seropositive dogs. In the Santa Terezinha and Manchester Park neighborhoods, the decrease in the time interval between investigations provided a rapid and drastic reduction in the prevalence of canine infection, around the eighteenth month of the study, however it returned to the previous values in the following months, being identified the importance of the permanent entry of new animals and the replacement of infected animals. It was observed that households with more than two dogs present a risk for canine LV about 2.5 (two and a half times) greater than that of one or two animals.

These results strengthen, from the operational point of view, the strategy of active search for canine infection at twelve-month intervals.

Key words: Visceral leishmaniasis; *Leishmania infantum*; Dogs; Health Surveys; Epidemiological Surveillance; Epidemiology.

Lista de abreviaturas e siglas

| | |
|-----------------|--|
| Cfa | Clima subtropical úmido |
| DIAGAMBI | Diagnóstico ambiental |
| DNA | Ácido Desoxirribonucléico |
| ELISA | Ensaio imunoenzimático |
| EIE | Ensaio Imunoenzimático |
| HIV | Human Immunodeficiency Virus |
| IgG | Imunoglobulina da subclasse G |
| JH | Jardim Helena |
| JV | Jardim Vanuíre |
| IBGE | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística |
| LC | Leishmaniose cutânea |
| LCD | Leishmaniose cutânea difusa |
| LMC | Leishmaniose mucocutânea |
| LV | Leishmaniose visceral |
| LVC | Leishmaniose visceral canina |
| LVZ | Leishmaniose visceral zoonótica |
| MS | Mato Grosso do Sul |
| OR | Odds ratio |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| PM | Parque Manchester |
| PVCLV | Programa de Vigilância e Controle da leishmaniose visceral |
| IFI | Reação de imunofluorescência indireta |
| RR | Risco relativo |
| RIFI | Reação de imunofluorescência indireta |
| ST | Santa Terezinha |
| TMB | Tetrametilbenzidina |
| WHO | World Health Organization |

Lista de figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1 - Ciclo biológico de <i>Leishmania</i> sp..... | 2 |
| Figura 2 - Endemicidade da leishmaniose tegumentar no mundo, 2015..... | 3 |
| Figura 3 - Endemicidade da leishmaniose visceral no mundo, 2015.... | 3 |
| Figura 4 – Taxonomia de <i>Leishmania</i> | 5 |
| Figura 5 – Espécies de <i>Leishmania</i> e leishmanioses humanas..... | 5 |
| Figura 6 - Classificação epidemiológica dos municípios para vigilância e controle da leishmaniose visceral no Estado de São Paulo..... | 20 |
| Figura 7 – Delineamento do estudo..... | 31 |
| Figura 8 – Mapa de localização do município de Bauru no estado de São Paulo e imagem de satélite..... | 32 |
| Figura 9 – Porcentagem de imóveis, com cães, sem cães e terrenos baldios, nos bairros de Santa Terezinha, Parque Manchester, Jardim Helena e Jardim Vanuire, no município de Bauru, Estado de São Paulo. (2008 - 2012)..... | 40 |
| Figura 10 – Porcentagem de imóveis, com cães examinados e não examinados nos bairros de Santa Terezinha, Parque Manchester, Jardim Helena e Jardim Vanuire no município de Bauru, Estado de São Paulo (Período, 2008-2012)..... | 42 |
| Figura 11. Quantitativo de animais presentes nos diferentes inquéritos soroepidemiológicos para diagnóstico da LV canina, distribuídos segundo a categorização de “cães presentes em inquéritos anteriores” e “cães novos no inquérito”..... | 51 |
| Figura 12. Registro da participação cães positivos novos e dos valores de soroconversão para LV canina nos diferentes inquéritos soroepidemiológicos realizados..... | 54 |

Lista de tabelas

| | |
|--|----|
| Tabela 1 - Características dos imóveis..... | 39 |
| Tabela 2 - Quantitativo de imóveis com cães incluídos no estudo... | 40 |
| Tabela 3 – Quantitativo de cães examinados e não examinados dos quatros bairros..... | 41 |
| Tabela 4 - Características gerais dos cães dos quatro bairros Santa Terezinha, Parque Manchester, Jardim Helena e Jardim Vanuire) incluídos no estudo de coorte, dos quatro bairros. Município de Bauru, Brasil, 2008-2012..... | 43 |
| Tabela 5 - Total de amostras sanguíneas coletadas dos cães presentes nos imóveis dos quatro bairros do município de Bauru, São Paulo, 2008-2012.n=2162..... | 44 |
| Tabela 6 -. Resultados finais e prevalência geral para o diagnóstico da LV canina, distribuídos segundo bairro de residência dos animais. Município de Bauru, São Paulo, 2008-2012. n=2162..... | 44 |
| Tabela 7 .- Resultados finais para o diagnóstico da LV canina, distribuídos segundo método diagnóstico utilizado e por inquérito. n=2162. Não incluídas amostras com resultado zona cinza (ELISA)..... | 45 |
| Tabela 8 .- Prevalência de resultados positivos para o diagnóstico para a LV canina, distribuídos por bairros e por inquérito, tendo como base o total realizado em cada bairro e, como denominador a soma dos valores dos diferentes inquéritos. n=2162..... | 45 |
| Tabela 9 - Prevalência de resultados positivos para o diagnóstico para a LV canina, distribuídos por bairros e por inquérito, tendo como base o total realizado em cada bairro tendo cada um dos inquéritos..... | 46 |
| Tabela 10 - Coorte de cães incluídos em estudos sobre LV no Bairro Santa Terezinha, município de Bauru, estado de São Paulo. Distribuição dos animais, amostras examinadas, resultados, | |

| | |
|---|----|
| soroconversão , taxa de entrada e reposição canina..... | 47 |
| Tabela 11 - Coorte de cães incluídos em estudos sobre LV no Bairro Parque Manchester, município de Bauru, estado de São Paulo. Distribuição dos animais, amostras examinadas, soroconversão , taxa de entrada e reposição canina..... | 48 |
| Tabela 12 - Coorte de cães incluídos em estudos sobre LV no Bairro Jardim Helena, município de Bauru, estado de São Paulo. Distribuição dos animais, amostras examinadas, resultados, soroconversão , taxa de entrada e reposição canina..... | 49 |
| Tabela 13 - Coorte de cães incluídos em estudos sobre LV no Bairro Jardim Vanuire, município de Bauru, estado de São Paulo. Distribuição dos animais, amostras examinadas, resultados, soroconversão , taxa de entrada e reposição canina..... | 50 |
| Tabela 14 - Avaliação da prevalência de leishmaniose visceral canina nos inquéritos soropidemiológicos semestrais realizados nos bairros Santa Terezinha (ST) e Parque Manchester (PM) e anuais nos bairros Jardim Helena (JH) e Jardim Vanuire(JV) em Bauru, São Paulo..... | 52 |
| Tabela 15 - Resultados do diagnóstico laboratorial para leishmaniose visceral..... | 55 |
| Tabela 16 - Quantitativo de imóveis com presença de cães soropositivos (imóveis positivos) diagnosticados ao final do total de inquéritos soropidemiológicos..... | 55 |
| Tabela 17 - Quantitativo de imóveis com presença de cães soropositivos (imóveis positivos) diagnosticados ao final do período de vinte e quatro meses de realização dos inquéritos soropidemiológicos..... | 56 |
| Tabela 18 - Quantitativos de cães com diagnóstico positivo para leishmaniose visceral canina, distribuídos segundo número de exames realizados, único exame ou dois ou mais exames (soroconvesão)..... | 56 |
| Tabela 19 - Quantitativo de imóveis com registro de ingresso de | |

| | |
|--|----|
| novos cães após a realização do primeiro inquérito soroepidemiológico para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina..... | 57 |
| Tabela 20 - Quantitativo de imóveis com registro de "reposição" canina após diagnóstico, recolhimento e eutanásia de cães soropositivos para leishmaniose visceral..... | 58 |
| Tabela 21 - Somatório dos quantitativos de cães dos bairros Santa Terezinha e Parque Manchester, examinados em dois ou mais inquéritos e distribuídos segundo tempo de exposição (número de inquéritos soroepidemiológicos)..... | 59 |
| Tabela 22 - Distribuição dos resultados obtidos na análise de risco de LVC em função do tempo de exposição (meses)..... | 59 |
| Tabela 23 - Distribuição dos quantitativos de cães positivos e negativos para a LVC, segundo número de animais por domicílio nos bairros Santa Terezinha e Parque Manchester, excluídos os aqueles que estiveram presentes num único inquérito..... | 60 |
| Tabela 24 - Avaliação de risco da leishmaniose visceral canina segundo número de cães por domicílio nos bairros de Santa Terezinha e Parque Manchester em Bauru, São Paulo..... | 61 |
| Tabela 25 - Características ambientais das casas com cães que participaram de mais de um inquérito com soroconversão no bairro Santa Terezinha..... | 62 |
| Tabela 26 - Características ambientais das casas com cães que participaram de mais de um inquérito com soroconversão no bairro Manchester..... | 63 |
| Tabela 27 - Características ambientais de acordo com a presença de matéria orgânica das casas com cães que participaram de mais de um inquérito com soroconversão no bairro Santa Terezinha..... | 64 |
| Tabela 28 - Características ambientais de acordo com a presença de matéria orgânica das casas com cães que participaram de mais de um inquérito com soroconversão no bairro Manchester.... | 65 |

Índice

| | |
|--|----|
| 1. Introdução. | 1 |
| 1.1. Aspectos gerais. | 1 |
| 1.2. Aspectos do parasito e do ciclo de transmissão das leishmanioses. | 4 |
| 1.2.1. Transmissão do hospedeiro invertebrado para o hospedeiro vertebrado | 6 |
| 1.2.2. Transmissão do hospedeiro vertebrado para o hospedeiro invertebrado. | 7 |
| 1.3. Síndromes clínicas. | 8 |
| 1.4. A Leishmaniose Visceral: uma doença emergente e re-emergente. | 8 |
| 1.4.1. Agente etiológico. | 9 |
| 1.4.2. Vetores. | 11 |
| 1.4.3. Reservatórios. | 12 |
| 1.4.4. Ciclos epidemiológicos da Leishmaniose Visceral. | 13 |
| 1.4.5. Epidemiologia da Leishmaniose Visceral no Velho e Novo Mundo. | 14 |
| 1.4.6. Epidemiologia da leishmaniose visceral no Brasil, São Paulo e Bauru. | 16 |
| 1.4.7. Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. | 22 |
| Relevância do Estudo. | 26 |
| 2. Objetivos. | 28 |
| 2.1. Objetivo Geral. | 28 |
| 2.2. Objetivos Específicos. | 28 |
| 3. Material e métodos. | 29 |
| 3.1. Delineamento do estudo e estudo de coorte. | 29 |
| 3.2. Região e áreas de estudo. | 32 |
| 3.3. Coleta, preparação, registro e fluxo das amostras das amostras. | 34 |
| 3.4. Avaliação sorológica. | 35 |
| 3.4.1. Diagnóstico em campo. | 35 |
| 3.4.1.1. Diagnóstico clínico para a leishmaniose visceral canina. | 35 |
| 3.4.2. Em laboratório. | 35 |
| 3.4.2.1. Ensaio imunoenzimático. | 35 |
| 3.4.2.2. Reação de imunofluorescência indireta. | 36 |

| | |
|-------------------------------|----|
| 3.5. Analise ambiental..... | 37 |
| 3.6. Análise estatística..... | 37 |
| 3.8. Aspectos de éticos. | 38 |
| 4. Resultados.. | 39 |
| 5. Discussão.. | 67 |
| 6. Conclusão.. | 80 |
| 7. Referências Bibliográficas | 82 |

1. Introdução.

1.1. Aspectos gerais.

As leishmanioses representam um complexo de doenças com grande importância clínica e diversidade epidemiológica. De maneira geral são de origem zoonótica e atingem diferentes populações em quase todo o mundo, estando entre os maiores problemas de saúde pública, principalmente em países subdesenvolvidos. Os agentes causais das leishmanioses são protozoários parasitas pertencentes ao gênero *Leishmania*. As leishmanioses se apresentam como doença cutânea ou visceral. (Bates, 2007, WHO, 2010).

A transmissão ao homem e a outros vertebrados ocorre através da picada de fêmeas de insetos dípteros da família Psychodidae, subfamília Phlebotominae. Cerca de trinta espécies de flebotomíneos são incriminadas como vetores do parasita. (WHO, 2015) (Figura 1).

A leishmaniose visceral (LV) tem prioridade de atenção em relação à leishmaniose cutânea (LC), pelo risco de evolução fatal na ausência de tratamento específico. (Desjeux 2004).

Aos poucos, as características clínicas e geográficas da doença humana foram suplementadas por estudos em animais reservatórios e vetores. O comportamento de *Leishmania* em animais experimentais e a ecologia dos ciclos naturais de leishmaniose reforçaram as bases para a classificação e para a compreensão de sua transmissão para seres humanos. (WHO, 2010).

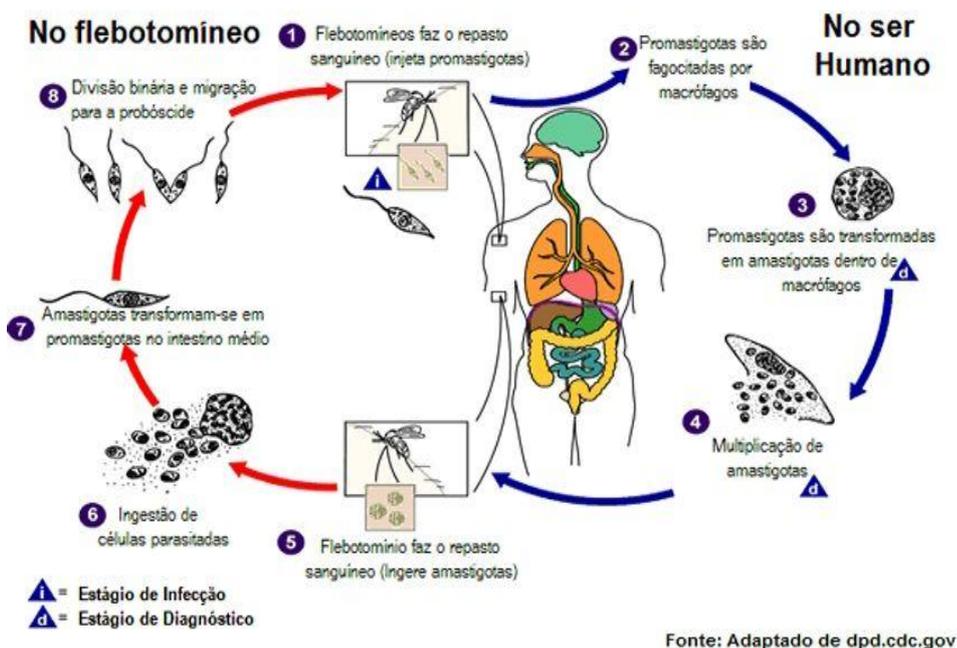


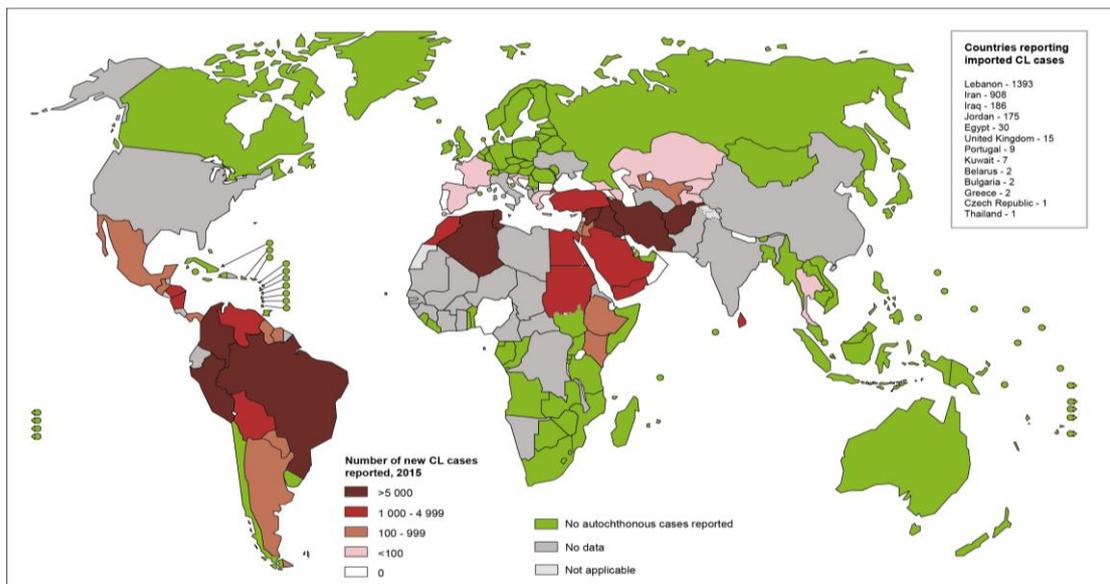
Figura 1 – Ciclo biológico de *Leishmania* sp.

Disponível em: <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/html/leishmaniasis.htm>

São 98 países endêmicos, sendo que 13 são considerados desenvolvidos e os demais subdesenvolvidos. Estima-se em 350 milhões o número de pessoas em risco, com cerca de 1-1,5 milhões de novos casos de leishmaniose cutânea e 500.000 casos de leishmaniose visceral (WHO, 2015).

As epidemias relacionadas com a leishmaniose visceral na África Oriental (Etiópia, Quênia, Sudão do Sul e Sudão) causam alta morbidade e mortalidade nas comunidades afetadas. Do mesmo modo, grandes epidemias de leishmaniose cutânea afetaram diferentes partes do Afeganistão e da República Árabe da Síria (WHO, 2015).

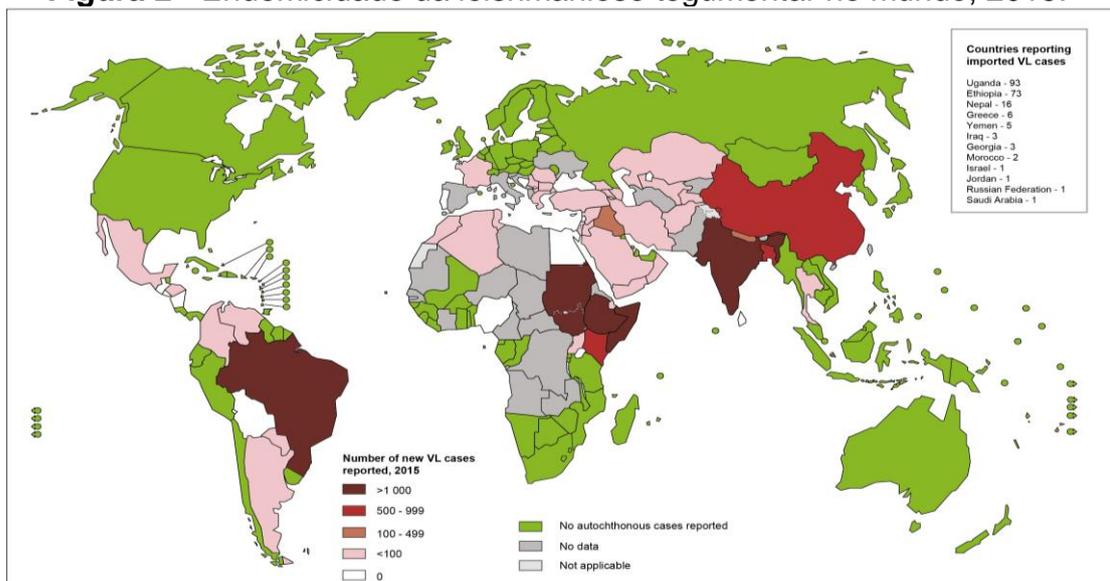
Em 2014, mais de 90% dos novos casos de leishmaniose visceral notificados à Organização Mundial da Saúde (OMS) ocorreram em seis países: Brasil, Etiópia, Índia, Somália, Sudão do Sul e Sudão. A maioria dos casos de leishmaniose cutânea ocorre no Afeganistão, Argélia, Brasil, Colômbia, República Islâmica do Irã, Paquistão, Peru, Arábia Saudita e República Árabe da Síria (WHO, 2015).



World Health Organization. Centro de Doenças Tropicais Negligenciadas.
http://gamapserver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/Leish_CL_2015.png?ua



Figura 2 - Endemicidade da leishmaniose tegumentar no mundo, 2015.



World Health Organization. Centro de Doenças Tropicais Negligenciadas.
http://gamapserver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/Leish_CV_2015.png?ua=1



Figura 3 - Endemicidade da leishmaniose visceral no mundo, 2015.

As leishmanioses ainda são importantes problemas de saúde pública, relacionadas a fatores de riscos ambientais como migrações, urbanização, desmatamento, mas também fatores de risco individuais: HIV, desnutrição, genética, entre outros. A dificuldade para o controle e o aumento da incidência das leishmanioses é relacionada ainda, com outros fatores de

risco, como: invasão de ecossistemas silvestres; alterações no relacionamento entre os parasitas, os hospedeiros naturais e os flebotomíneos como vetores. O aumento das migrações de pessoas para regiões endêmicas facilita o contato de humanos com ecótipos naturais dos reservatórios silvestres. Hoje, em muitas das áreas endêmicas observa-se o convívio e interação entre o próprio homem, seus animais domésticos, principalmente cães, gatos e equinos, vetores e, é óbvio o parasito. Da mesma forma nesse novo ambiente e em decorrência da presença do homem, outros animais, como roedores e marsupiais passaram a compor um ciclo peridomiciliar de *Leishmania* sp. (Desjeux, 1996, Desjeux, 2004).

1.2. Aspectos do parasito e do ciclo de transmissão das leishmanioses.

As leishmanioses compõem um grupo de doenças veiculadas por vetores que transmitem *Leishmania* ssp, protozoário intracelular obrigatório, parasito digenético do filo Protozoa, ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae, gênero *Leishmania* (Elmahallawy *et al*, 2014, Lainson e Shaw, 1979, Ross, 1903).

Ao longo da evolução, *Leishmania* se adaptou a ambientes variados e heterogêneos, por exemplo, diferentes temperaturas em seus hospedeiros vertebrados, invertebrados e, nas condições de cultivo *in vitro*; sobrevivência a diferentes gradientes de pH, desde neutro até um altamente ácido no estômago dos flebotomíneos e no fagolisossoma dos macrófagos; diferentes conteúdos de nutrientes e oxigênio e, ainda, para realizar o escape ao ataque do sistema imunológico, sistema complemento, anticorpos e linfócitos T. (Sharma e Singh, 2008).

Leishmania apresenta duas formas evolutivas no ciclo heteroxênico: formas promastigota e amastigota. No inseto vetor o parasita se transforma na forma promastigota que se caracteriza por uma forma alongada, flagelada e com motilidade, extracelular com comprimento entre 5 e 15 μm . A forma amastigota, entre 3 e 5 μm é encontrada no interior das células dos

mamíferos com o formato ovóide, sem motilidade e intracelular. (Sharma e Singh, 2008).

São conhecidas cerca de 30 diferentes espécies nesse gênero, das quais 20 tem importância médica e veterinária. (Bates, 2007, WHO, 2010) Figura 4 e 5).

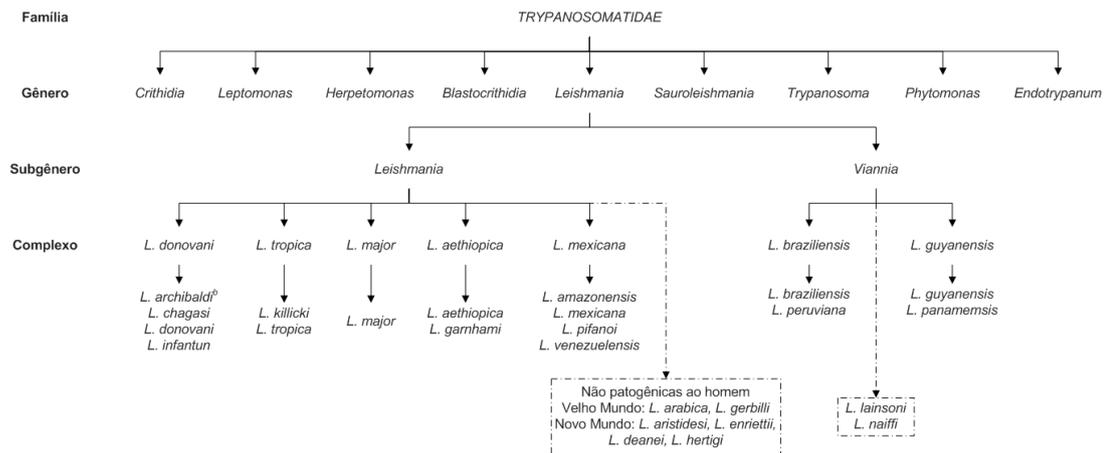


Figura 4 – Taxonomia de *Leishmania*.

(http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/82766/1/WHO_TRS_949_spa.pdf)

| Subgênero | <i>L. (Leishmania)</i> | <i>L. (Leishmania)</i> | <i>L. (Viannia)</i> | <i>L. (Viannia)</i> |
|--------------------|--|---|---|---|
| Viejo Mundo | <i>L. donovani</i> <i>L. infantum</i> | <i>L. major</i> <i>L. tropica</i> <i>L. killicki</i> ^a <i>L. aethiopica</i> <i>L. infantum</i> | | |
| Nuevo Mundo | <i>L. infantum</i> | <i>L. infantum</i> <i>L. mexicana</i> <i>L. pifano</i> ^a <i>L. venezuelensis</i> <i>L. garnham</i> ^a <i>L. amazonensis</i> | <i>L. braziliensis</i> <i>L. guyanensis</i> <i>L. panamensis</i> <i>L. shawi</i> <i>L. naiffi</i> <i>L. lainsoni</i> | <i>L. braziliensis</i> <i>L. panamensis</i> <i>L. lindenbergi</i> <i>L. peruviana</i> <i>L. colombiensis</i> ^b |
| Tropismo principal | Visceral | Dérmico | Dérmico | Mucoso |

a. Posição taxonômica em revisão.

Figura 5 – Espécies de *Leishmania* e leishmanioses humanas.

(http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/82766/1/WHO_TRS_949_spa.pdf)

Em essência, o ciclo de circulação da maior parte das espécies de *Leishmania* ocorre, primariamente, entre flebotomíneos e mamíferos silvestres, conferindo às leishmanioses o caráter zoonótico.

Os vetores de *Leishmania* são flebotomíneos pertencentes ao Filo Arthropoda, Classe Insecta, Ordem Diptera, Família Psychodidae, Subfamília Phlebotominae. (Bates, 2007; Kalra e Bang, 1988). São conhecidas em torno de mil espécies de flebotomíneos, sendo que cerca de setenta são suspeitas de atuar como vetores de patógenos. Os vetores de *Leishmania* estão restritos há dois gêneros: *Phlebotomous* no Velho Mundo ou *Lutzomyia* no Novo Mundo, sendo muito semelhantes do ponto de vista morfológico. (Sharma e Singh, 2008).

Apenas as fêmeas de flebotomíneos exercem a hematofagia, pela necessidade de suplementação sanguínea para maturação dos ovários. Os vetores são infectados quando da realização do repasto sanguíneo em hospedeiros vertebrados infectados (Elmahallawy *et al*, 2014).

Alternativamente, a transmissão de *Leishmania* pode se dar por outras vias, como seringas compartilhadas entre os usuários de drogas endovenosas (Cruz *et al*, 2002); transfusão de sanguínea (Owens *et al*, 2001); infecções sexualmente transmissíveis (Symmers, 1960, Chatterjee, 1980), e congênita, da mãe infectada para filho (Rosypal, 2005). Entretanto esses modos de transmissão são muito raros (Elmahallawy *et al*, 2014).

1.2.1. Transmissão do hospedeiro invertebrado para o hospedeiro vertebrado.

No momento da transmissão, o flebotomíneo infectado introduz as formas promastigota na pele do hospedeiro durante o repasto sanguíneo. Em seguida os macrófagos da pele capturam esses parasitas, onde essas formas flageladas se transformam em amastigota, num período em torno de 12 a 24 horas. Então, formas amastigotas se multiplicam no interior dos macrófagos, até o rompimento dessas células infectadas e liberação das amastigotas que infectam novos macrófagos. Essa fase pode se prolongar

desde poucos dias até anos para o aparecimento dos sinais ou sintomas da doença. Há ainda situações em que os indivíduos infectados passarão toda a vida na condição de assintomáticos, isso dependerá da suscetibilidade do hospedeiro e seu estado imunológico.

Os macrófagos infectados podem estar localizados na pele como na leishmaniose cutânea (LC) em forma de úlceras na pele ou se disseminar para outras partes do corpo como na leishmaniose cutânea difusa (LCD) ou órgãos no caso da leishmaniose visceral (LV) ou a leishmaniose mucocutânea (LMC). (Sharma e Singh, 2008).

1.2.2. Transmissão do hospedeiro vertebrado para o hospedeiro invertebrado.

Quando um flebotomíneo não infectado realiza repasto sanguíneo num hospedeiro vertebrado infectado, o inseto introduz a probóscide na pele do hospedeiro e através de peças afiadas contidas nesta, irá produzir pequenas poças de sangue para facilitar a efetivação da ingestão do alimento, encontrará presentes macrófagos infectados que serão ingeridos pelos flebotomíneos reiniciando um novo ciclo.

Na LV, os macrófagos estão concentrados no fígado, baço e medula óssea. No repasto sanguíneo, o flebotomíneo poderá ingerir esses macrófagos infectados circulantes na corrente sanguínea. Este fator talvez justifique porque apenas alguns flebotomíneos são encontrados infectados na LV. Quando as amastigotas são ingeridas pelos flebotomíneos, a transformação destas em promastigotas se inicia após a ingestão e termina em torno de 24 a 48 horas e continuam se dividindo num contínuo processo de divisão binária. A maturação das promastigotas metacíclicas ocorre no intestino médio e anterior. O flebotomíneo transmitirá o parasito quando realizar nova alimentação de sangue na mesma ou em outras espécies vertebradas. (Sharma e Singh, 2008).

O desenvolvimento do parasita no vetor é muito complexo e pouco compreendido (Walter, 2003). De acordo com a região do trato digestório do

flebotomíneo em que *Leishmania* se desenvolve é possível reconhecer os dois subgêneros neste gênero: *Leishmania (Leishmania)* e *Leishmania (Vianna)*. Os parasitas pertencentes ao subgênero *Leishmania* se desenvolvem no intestino médio e anterior enquanto aqueles pertencentes ao subgênero *Vianna* se desenvolvem na porção posterior do intestino (Lainson e Shaw, 1987).

1.3. Síndromes clínicas.

A leishmaniose é uma síndrome clínica bastante heterogênea, os espectros clínicos da leishmaniose englobam desde quadros subclínicos não aparentes, tanto na LC como na LV; sinais e sintomas localizados, com lesão cutânea na LC; infecção disseminada nas formas mucocutânea e difusa na LC e diferentes órgãos na LV. Esse espectro de manifestações depende do estado imune do hospedeiro, da espécie do parasita, da resposta imune/inflamatória do hospedeiro e da suscetibilidade genética do hospedeiro. (Elmahallawy *et al*, 2014, Mcgwire e Satoskar, 2014).

1.4. A Leishmaniose Visceral: uma doença emergente e re-emergente.

Nas últimas décadas a Saúde Pública tem sido desafiada a enfrentar novos e antigos problemas. Assim é que um considerável número de novas doenças ou mesmo antigas doenças “supostamente controladas”, denominadas emergentes tem sido identificadas e, em ambas as situações apresentando elevado potencial de disseminação (Kombe e Darrow, 2001).

O termo emergente tem sido utilizado em pelo menos três situações diferentes (Brown, 2004):

- Quando um agente etiológico conhecido é descrito em uma nova região geográfica;
- Quando um agente etiológico conhecido é registrado em uma espécie hospedeira anteriormente identificada como “não suscetível”;

- Quando um novo agente etiológico é descrito pela primeira vez.

Em várias partes do mundo, incluindo o Brasil, as leishmanioses enquadram-se nessa nova condição, seja pela expansão e disseminação dos focos naturais de transmissão, seja pelo ressurgimento de autoctonia em regiões endêmicas antigas (Ministério da Saúde, 2006 e 2007; Tolezano, 2000).

1.4.1. Agente etiológico.

Em 1903, de forma independente, William Boog Leishman e Charles Donovan descreveram a presença de corpúsculos arredondados, alongados ou ovais em preparações pós-morte, em esfregaços confeccionados a partir de baço de pacientes com febre, disenteria crônica e caquexia. No mesmo ano de 1903, Laveran e Mesnil, inicialmente atribuíram o nome de *Piroplasma donovani*, para o protozoário que identificaram como agente de uma febre na Índia. Ainda em 1903 a,b, Ross propôs a criação do gênero *Leishmania* para classificar aqueles organismos descritos por Leishman e Donovan e propôs a correção da denominação para *Leishmania donovani*, em homenagem a Leishman e Donovan.

Em 1908, Nicolle nomeou como *L. infantum* o parasita responsável pela forma visceral da leishmaniose; identificou cães como reservatórios naturais desse protozoário na Tunísia e, ainda, obteve sucesso no cultivo em laboratório. Em 1912, Carini identificou *Leishmania* em lesões de mucosas em pacientes com leishmaniose no Brasil. No início dos anos 1940, Swaminath, Shortt e Anderson na Índia e Adler e Ber na Palestina demonstraram a transmissão de *L. donovani* e *L. tropica* (provavelmente *L. major*) por flebotomíneos (WHO, 2010).

A LV é causada pelas espécies do complexo *L. donovani*, que é composto por quatro principais espécies: *L. archibaldi*, *L. donovani*, *L. chagasi*, e *L. infantum* que diferenciam entre si pelos vetores, hospedeiros reservatórios e patologia. No velho Mundo os agentes etiológicos são *L. donovani* e *L. infantum* e no Novo Mundo é a *L. chagasi* (Lukes *et al*, 2007).

No Brasil, o agente etiológico da LV foi descrito pela primeira vez por Cunha e Chagas, para o qual foi atribuído o nome específico de *Leishmania chagasi*. Esse parasito foi descrito como uma nova espécie para diferenciar agente etiológico da LV conhecido no Velho Mundo como *L. donovani* e *L. infantum*. Lainson e Shaw após extensa revisão do gênero *Leishmania* reclassificaram o parasita como membro do subgênero *Leishmania L.(L) chagasi*.

Atualmente, apesar de diferenças no nome e origem geográfica, análises moleculares indicam que estas duas espécies são geneticamente indistinguíveis, sendo sugerido que *L. infantum* e *L. chagasi* são a mesma espécie (Mauricio *et al*, 1999). Kuhls *et al* (2011). Esses autores, através da análise de microssatélites para *L. infantum* do Novo Mundo, de diferentes regiões endêmicas do Brasil e de outros países verificaram que de fato diferentes populações de *L. infantum* das Américas são inseparáveis daquelas de origem europeia. Possivelmente trazidas do Velho Mundo, principalmente no período da colonização portuguesa (Akhoundi *et al*, 2016).

No entanto, Lainson e Shaw defenderam a manutenção do parasita em um nível subespecífico, como *Leishmania (L.) infantum chagasi*, com base em suas características etiológicas, como o habitat silvestre de seu flebotomíneo vetor, *Lutzomyia longipalpis*, e seu reservatório vertebrado natural, a raposa *Cerdocyon thous*. Silveira e Corbett (2010) não concordam na proposta de desqualificar *L. (L.) chagasi*, que tem sido reconhecido por mais de cinquenta anos como o agente etiológico de LV, com base na similaridade de seu DNA com o de *L. (L.) infantum*., porque apenas esta descoberta, sozinha, não confirma suas características taxonômicas de forma suficiente para anular todo o conhecimento científico acumulado sobre este parasita de *Leishmania* nos últimos cinquenta anos. E assim acreditam que o correto seria a de manter o status subespecífico do agente etiológico de LV como *L. (L.) i. chagasi*, como proposto por Lainson e Shaw. No presente estudo utilizaremos a denominação *L. (L.) infantum chagasi* para designar o agente da LV no Novo Mundo.

1.4.2. Vetores.

A transmissão da LV no Brasil esta relacionada com duas espécies de flebotomíneo o *Lutzomyia longipalpis*, identificado como o principal vetor de *L. infantum chagasi*, e também a espécie *Lu. cruzi* que estaria restrito em algumas regiões de Mato Grosso do Sul. Nessa espécie as fêmeas são morfologicamente idênticas às fêmeas de *Lu. longipalpis* e os machos são distinguidos a partir de pequenas diferenças na genitália (Brito *et al*, 2014).

Os flebotomíneos são insetos pequenos com o comprimento do corpo raramente superior a 3 mm, tem como característica: sua coloração amarelada ou cor de palha. Quando em posição de repouso suas asas permanecem eretas e semi-abertas. Os flebotomíneos são insetos silenciosos e com capacidade de vôo relativamente curto e em saltos, que leva a supor que estes não tem capacidade para voos longos e distantes do local de reprodução. São mais ativos no crepúsculo e durante a noite, poucas espécies picam durante o dia e repousam em lugares escuros e úmidos (Killick-Kendrick, 1999).

Os machos e as fêmeas de flebotomíneos se alimentam de fontes de açúcar encontrando na seiva de plantas e matéria orgânica, mas apenas as fêmeas se alimentam de sangue para maturação dos ovos (Killick-Kendrick, 1999). As fêmeas depositam seus ovos em toca de roedores, casca de árvores velhas, edifícios em ruína, em rachaduras na parede da casa, em abrigos de animais, no lixo domestico, ou em ambientes propícios para o desenvolvimento das larvas, com disponibilidade de matéria orgânica, calor e umidade, necessários para a evolução até a fase de pupa. (Sharma e Singh, 2008).

No Velho Mundo, os flebotomíneos geralmente se encontram em regiões de deserto e semi-árido, enquanto no Novo Mundo tenham preferência por regiões florestais.

No Velho Mundo os flebotomíneos podem também ser encontrados no peridomicílio e em habitações humanas.

No Novo Mundo tais insetos são encontrados associados próximos a regiões florestais ou mesmo pequenos abrigos protegidos por vegetação em ambientes modificados, facilitando a transmissão das leishmanioses e relacionamento com a população humana presente ou introduzida nos ecótopos de circulação dos parasitos. (Sharma & Singh, 2008).

Muitas espécies de flebotomíneos antes caracterizadas como tipicamente silvestres têm sido encontradas em áreas urbanas e periurbanas além das áreas florestais, demonstrando a capacidade do vetor em se adaptar às modificações ambientais realizadas pelo homem (Ministério da Saúde, 2006).

O vetor *Lu. longipalpis* foi encontrado colonizando ambiente de condições ecológicas diversas, o que pode explicar seu sucesso para a dispersão e adaptação ao redor das habitações humanas facilitando assim a transmissão da doença. *Lu longipalpis* tem sido encontrado se alimentado em diversas espécies de vertebrados como boi, macacos, porcos e galinhas (Ministério da Saúde, 2006, Sharma e Singh, 2008).

1.4.3. Reservatórios.

Como em qualquer sistema parasito-hospedeiro, nas leishmanioses a infecção dos hospedeiros mamíferos é determinada por: fatores do hospedeiro (espécies, infecções concomitante, saúde, sexo, idade, padrões comportamentais), características do parasita (tempo de geração, estratégias de dispersão, características moleculares e bioquímicas de suas sub-populações), exposição (tamanho do inóculo) e as condições ambientais locais (influenciado, por exemplo, pelo stress e pela disponibilidade de recursos naturais), onde o encontro parasita-hospedeiro ocorre.

Todos esses fatores revelam que diferentes hospedeiros mamíferos podem desempenhar diferentes papéis no ciclo em diferentes localidades e período de tempo, e também a competência para infectar o vetor (infectividade ou competência transmissibilidade) (Roque e Jansen, 2014).

Os hospedeiros mamíferos capazes de garantir a taxa básica de reprodução da espécie de determinado parasito são chamados de reservatórios primários. Para o parasito estes hospedeiros são essenciais na manutenção e dispersão, ainda que possam existir inúmeros outros reservatórios secundários ou mesmo hospedeiros acidentais. Reservatórios secundários podem contribuir para aumentar a taxa básica de reprodução do parasito, porém isoladamente não garantirão sua perpetuação no ambiente. Em diferentes regiões diferentes espécies animais poderão exercer o papel de reservatório natural para determinado agente parasitário (Ashford, 1996, Dantas-Torres, 2007).

Na LV, os reservatórios naturais são mamíferos das Ordens: Carnívora, principalmente canídeos silvestres e domésticos e, Marsupialia, os gambás. Devido ao crescente processo de urbanização dessa zoonose, com o ciclo de transmissão mais próximo de ambiente antrópico, os animais domésticos e sinantrópicos têm assumido um importante papel como reservatórios naturais ou fontes de infecção (Ashford, 1996, Dantas-Torres, 2007).

Os cães domésticos são incriminados como principal fonte de infecção e reservatório de *L. infantum chagasi* em ambientes endêmicos urbanos devido a sua proximidade com os humanos. O alto parasitismo na pele e na circulação encontrado em cachorros e raposas é decisivo para o sucesso desses animais com fontes primárias do parasito para infecção de flebotomíneos nos focos de transmissão da LV (Dantas-Torres, 2007, Palatnik-de-Sousa, 2001, Roque e Jansen, 2014).

1.4.4. Ciclos epidemiológicos da Leishmaniose Visceral.

Dependendo ou não da presença de reservatórios não humanos de *Leishmania* sp, há dois tipos de ciclos epidemiológicos identificados: zoonótico e antroponótico. O ciclo antroponótico está associado à espécie *L. donovani*, no qual humanos podem ser fonte de infecção para flebotomíneos. Na LV na Índia, o parasito é encontrado no sangue, podendo

ser observado em esfregaços sanguíneos (Palatnik-de-Sousa *et al*, 2001, Short, 1927). Mesmo em momentos de surto, não há descrição da presença de reservatórios domésticos ou selvagens para *L. donovani*.

Na Índia, o intenso parasitismo sanguíneo e cutâneo na LV confere o papel de fonte de infecção para o ser humano infectado, caracterizando-se assim como uma verdadeira antroponose (Palatnik-de-Sousa *et al*, 2001).

A LV zoonótica é considerada entre as doenças emergentes e reemergentes mais importantes tanto no Velho quanto no Novo Mundo. *L. infantum* no Velho Mundo ou *L. infantum chagasi* = *L. infantum* no Novo Mundo, contam com a participação de cães, possivelmente a partir da presença ou introdução, nesse ambiente, de raposas infectadas que visitavam casas a procura de aves ou outros alimentos, fechando o ciclo de transmissão para outros animais e para o homem. (Deane e Deane, 1962, Laison, Shaw e Lins, 1969, Palatnik-de-Sousa *et al*, 2001).

1.4.5. Epidemiologia da Leishmaniose Visceral no Velho e Novo Mundo.

As perspectivas de controle da LV são totalmente dependentes do progresso da pesquisa direcionadas à busca por novas estratégias e novas ferramentas mais efetivas também sob o ponto de vista econômico, operacional. (Desjeux, 2004).

No Velho Mundo são encontrados os dois tipos epidemiológicos de LV: zoonótica e antroponótica. A leishmaniose visceral zoonótica (LVZ) está principalmente nos países que margeiam o Mediterrâneo (Itália, França, Portugal e Espanha) e na Ásia, tendo como o agente etiológico *L. infantum*, com diferentes vetores envolvidos na transmissão e, o cão como principal reservatório.

A LVZ encontra-se em rápida expansão para os países vizinhos Inglaterra e Alemanha (Schonian *et al*, 2008). Na LV antroponótica o agente etiológico é *L. donovani*, restrito à região oeste da África, Bangladesh, Índia

e Nepal, também com diversas espécies de flebotomíneos como transmissores e o homem como reservatório (Desjeaux, 2001, Ready, 2014).

Pelos registros, a Índia é um dos países mais afetados pela LV do mundo. Juntamente com Bangladesh e Nepal são responsáveis pela produção anual de cerca de 300.000 mil novos casos, correspondendo a aproximadamente 60% de todos os casos notificados mundialmente. Estima-se em 190 milhões de pessoas em situação de risco de infecção nessas regiões.

Ainda na Índia, Bangladesh, Nepal e no leste da África observa-se que muitos pacientes evoluem para a chamada leishmaniose dérmica pós “Kala-azar”, com a presença de lesões cutâneas após o tratamento (Sundar *et al*, 2008).

Atribui-se aos casos não tratados da LV antroponótica a responsabilidade pela disseminação do parasita nessa região. A LV antroponótica é mais prevalente em populações mais pobres e desnutridas, fator de risco para manifestações mais graves da doença (Alvar *et al*, 2006, Desjeux, 2004).

No Novo Mundo a LV é encontrada desde o Canadá até o norte da Argentina principalmente em regiões semiáridas, causada por *L. infantum chagasi* transmitida principalmente por *Lu. longipalpis*.

Nos Estados Unidos e no Canadá, a maioria dos relatos de casos humanos e de animais domésticos tem em comum histórico de viagens de regiões endêmicas (Garskin *et al*, 2002).

Recentemente, porém, a presença de casos autóctones de LV canina foi demonstrada nos Estados Unidos, mas não há casos humanos autóctones nos Estados Unidos e no Canadá (Garskin *et al*, 2002, Duprey *et al*, 2006).

Países Andinos, Venezuela, Colômbia, Equador, Peru e Bolívia são regiões endêmicas para leishmaniose cutânea enquanto a LV é relativamente rara e esporádica nesses países (Davies *et al*, 2000, Garcia *et al*, 2009).

1.4.6. Epidemiologia da leishmaniose visceral no Brasil, São Paulo e Bauru.

No Brasil, até meados da década de 1980 ocorria principalmente em zonas rurais e regiões menos desenvolvidas do nordeste, com mais de 80 a 90% dos casos notificados.

Antes de 1980 a maioria dos pacientes com LV eram de regiões rurais, embora com alguns casos relatados em cidades menores na década 50, e até mesmo em cidades um pouco maiores, como Sobral e Aracati, no Ceará, Jacobina, na Bahia, e Santarém, no Pará (Costa, 2008, Deane e Deane, 1962). Em 1981, foi registrado o primeiro caso urbano em Teresina no estado de Piauí. Novas epidemias mais tardes foram registradas em Natal, no estado do Rio Grande do Norte e em São Luís, no estado do Maranhão, ambas na região nordeste do país, em seguida se expandindo para outras regiões do país (Costa, Pereira e Araujo, 1990, Jeronimo *et al*, 1994, Silva *et al*, 1997).

A partir dessa década, observou-se uma redução, em termos percentuais, na contribuição nordestina na produção da LV, chegando hoje a cerca da metade dos casos notificados de LV no país. Isso reflete a intensidade do processo de expansão das áreas endêmicas no País, principalmente nos centros urbanos nas demais regiões brasileiras.

Assim, quatro novos padrões surgiram a partir dos anos de 1980: (i) transmissão de LV em áreas urbana das grandes cidades; (ii) disseminação rápida do nordeste e para várias cidades no norte, centro-oeste, sudeste e mais recentemente sul; (iii) grande proporção de casos na zona urbana em relação a zona rural; e (iv) aparecimento em grande escala de epidemias urbanas de leishmaniose visceral canina (LVC) Akhoundi M, Kuhls K, Cannet A, Votýpka J, Marty P, Delaunay P, Sereno D. A Historical Overview of the Classification, Evolution, and Dispersion of Leishmania Parasites and Sandflies. *PLoS Negl Trop Dis.* 2016; 10(3):1-40. (Harhay *et al*, 2011, Sherlock, 1996).

A transmissão limitada em pequenas cidades já estava presente anteriormente e, ainda persiste, em menor escala, a transmissão rural. Há um contraste notável entre a ecologia da doença na zona rural quando comparado com a ecologia da doença na região urbana (Harhay *et al*, 2011, Sherlock, 1996).

Depois de surtos em Teresina (Piauí) e São Luís (Maranhão), novas epidemias ocorreram na seguinte ordem destas cidades: Natal (Rio Grande do Norte), Belo Horizonte e Montes Claros (Minas Gerais), Corumbá e Campo Grande (Mato Grosso do Sul), Aracaju (Sergipe), Caxias e Imperatriz (Maranhão), Jequié (Bahia), Araçatuba e Bauru (São Paulo), Várzea Grande (Mato Grosso), Palmas (Tocantins), e agora Fortaleza (Ceará) e Brasília (Distrito federal), entre outros (Costa *et al*, 1995, Costa, 2008).

Na medida em que a transmissão da doença expandiu para as outras regiões, observou-se que mais de 50% dos casos notificados são de transmissão autóctone de fora da região nordeste. (Ministério da Saúde, 2009).

No Brasil até 2012, a transmissão autóctone da LV foi relatada em mais de 1.600 municípios, em 23 das 27 Unidades da Federação (<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2017/setembro/14/LV-Casos.pdf>). Anualmente são notificados cerca de 3.565 novos casos, representando uma incidência média anual de 2,0 casos/100.000 habitantes. A letalidade apresentou um aumento de 3,1% em 2000 para 7,1% em 2012. (Ministério da Saúde, 2012; Rangel *et al*, 2015).

A doença é mais frequente em menores de 10 anos (58%) e o sexo masculino é proporcionalmente o mais afetado (61%). Crianças apresentam maior suscetibilidade devido a relativa imaturidade imunológica, que pode ser agravado pela desnutrição, comum nas áreas endêmicas, além de uma maior exposição ao vetor no peridomicílio.

Na epidemiologia da LV em adultos, tem repercussão significativa a presença de formas oligossintomáticas ou assintomáticas, além das formas com expressão clínica (Ministério da Saúde, 2009).

A expansão da LV consequência da urbanização de toda a cadeia de transmissão, somadas à ocupação desordenada dos espaços, pauperização das periferias das cidades; transformações socioeconômicas se traduzem nas dificuldades de controle em grandes centros urbanos, onde ainda estão presentes desnutrição, conflitos e falta de solução para problemas habitacionais e saneamento básico (Gontijo & Melo, 2004).

A migração de populações humanas e caninas de áreas endêmicas contribui para sua expansão, ao introduzir o parasito *L. infantum chagasi* em novos ambientes (Scandar *et al*, 2011). Entre os fatores antrópicos, obras de construção civil, rodovias e outras devem ser consideradas no quadro epidemiológico da LV (Cardim *et al*, 2013). Antonialli *et al* (2007) sugerem que a disseminação da doença no Mato Grosso do Sul (MS) teve influência de três grandes obras: ferrovia Novoeste; rodovia Vitória-Corumbá e Gasoduto Bolívia-Brasil.

Fatores climáticos podem ser determinantes na epidemiologia da LV, portanto tem sido investigada a associação entre temperatura, umidade do ar, precipitação pluviométrica e presença do flebotomíneo (Oliveira *et al*, 2008, Viana *et al*, 2011)

No que concerne ao Estado de São Paulo, ao final da década de 1970 e início da década de 1980 foram diagnosticados alguns casos de LV em pacientes residentes na região metropolitana ao redor da cidade de São Paulo. As investigações epidemiológicas levadas a efeito, naquela época, não possibilitaram a confirmação da autoctonia da transmissão, nem mesmo foram possíveis o isolamento e a caracterização do agente etiológico uma vez que em quase todas essas situações o diagnóstico foi confirmado após o óbito dos pacientes (Iversson *et al*, 1979, 1982, 1983).

Os casos de leishmaniose visceral em humanos registrados no estado de São Paulo eram importados de outras regiões brasileiras até 1998 e os primeiros casos autóctones surgiram em Araçatuba em 1999 (Camargo-Neves *et al*, 1999). Isso ocorreu na sequência da detecção de *Lu. longipalpis* em zona urbana em 1997 (Costa *et al*, 1997) seguida da detecção da enzootia canina em 1998 (Camargo-Neves *et al*, 1999). Desde então a

doença vem ocorrendo em municípios situados na região do Planalto Ocidental Paulista, nos quais a transmissão tem feição exclusivamente urbana. A expansão da LVC no estado de São Paulo se deu no sentido Oeste-Leste e, mais recentemente, no sentido Norte-Sul, na região Leste do estado de São Paulo, a partir do Estado de Minas Gerais (Camargo-Neves *et al*, 2007).

Em dados disponíveis e analisados até dezembro de 2014 revelaram 132 municípios com transmissão de leishmaniose visceral, no qual 76 municípios apresentaram casos humanos e caninos autóctones e apenas nove municípios registraram somente casos humanos autóctones sem detecção de autoctonia canina e 47 municípios apresentaram somente transmissão canina (Ciaravolo *et al*, 2015).

Em relação ao vetor, a sua presença foi identificada em 177 municípios paulistas, sendo que 123 destes com transmissão, no qual *Lu.longipalpis* encontra-se em todos os 76 municípios com transmissão canina e humana, em seis, dos nove municípios com transmissão humana e em 40, dos 47 municípios com transmissão canina. Em 54 municípios ainda não foi identificada a circulação do parasita *L. infatum chagasi*, portanto esses municípios são classificados como Silenciosos Receptivos Vulneráveis aqueles com presença do vetor e sem notificação de casos humanos e/ou caninos autóctones identificados (Ciaravolo *et al*, 2015).

A LV em humanos no estado de São Paulo no período de 1999 a 2016 somou 6.705 casos suspeitos notificados, dos quais 2.712 foram confirmados como autóctones e distribuídos em 92 municípios. Nos casos confirmados, 233 casos evoluíram para óbitos, resultando em uma letalidade de 8,6% (233/2.712). O ano de 2008 foi aquele com maior número de casos com 294 confirmações, enquanto as maiores taxas de letalidade ocorreram em 1999, primeiro ano de transmissão autóctone no estado com 29,4% (5/17) e em 2003, com 14,7% (23/156) (Ciaravolo *et al*, 2015).

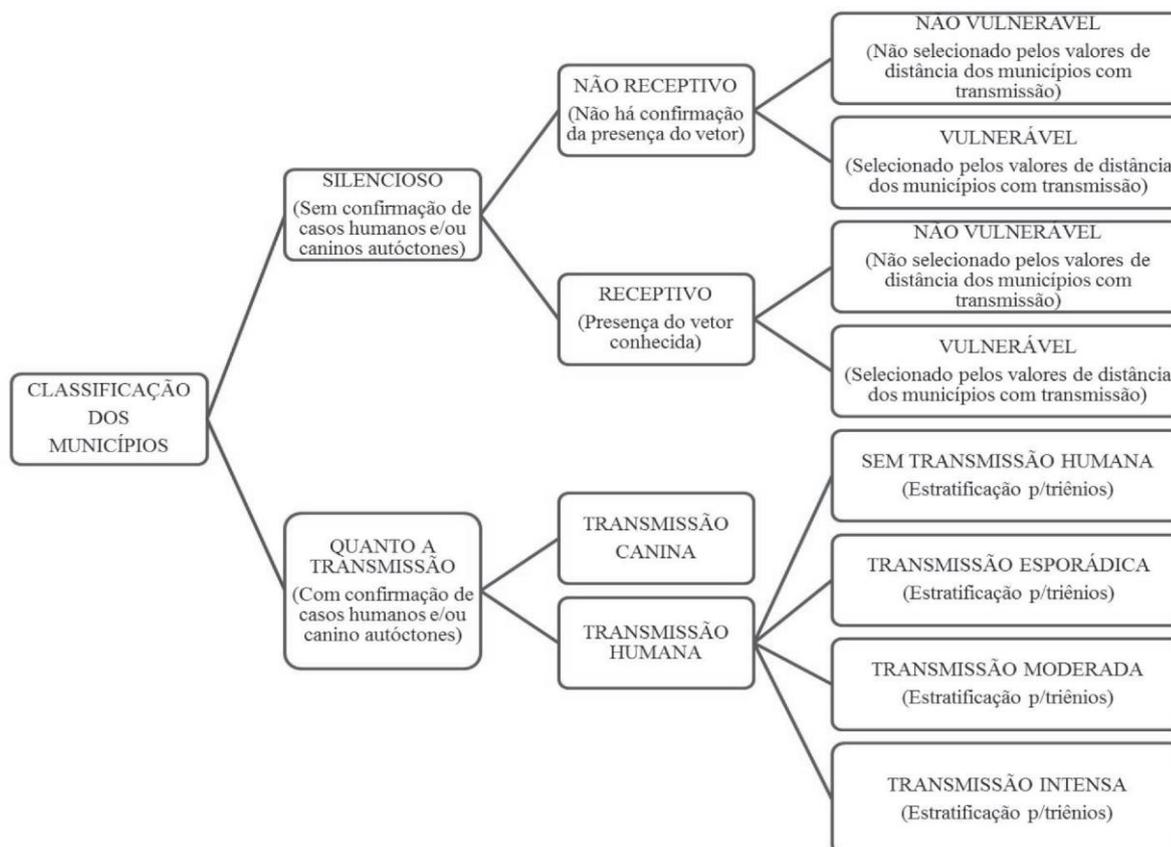


Figura 6 - Classificação epidemiológica dos municípios para vigilância e controle da leishmaniose visceral no Estado de São Paulo. **Fonte:** Boletim Epidemiológico Paulista 2015

De acordo com os parâmetros utilizados pelo Ministério da Saúde em relação aos municípios com transmissão humana consideram que a média de casos num período de três anos consecutivos. Assim municípios com média menor que 2,4 casos são classificados como “Transmissão Esporádica”, média entre 2,4 casos a <4,4 casos como “Transmissão Moderada” e média $\geq 4,4$ casos como “Transmissão Intensa”. Através dessa estratificação que deve ser avaliada anualmente, os municípios com transmissão moderada e intensa são considerados como “Prioritários” para as ações do Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (PVCLV) (Ciaravolo *et al*, 2015) (Figura 6).

No período de 2011 a 2014, o número de casos notificados foi de 1.732 e confirmados de 898, sendo 702 casos com municípios de infecção

no Estado de São Paulo. A faixa etária mais acometida foi de 0 a 4 anos com 199 casos (28,4%), seguido de 20 a 39 e 40 a 59 anos, ambos com 150 casos (21,4%) cada, ≥ 60 anos com 99 casos (14,1%), 10 a 19 anos com 55 casos (7,8%) e 5 a 9 anos com 49 casos (7,0%). O sexo masculino foi mais prevalente com 63,4% de frequência, e 96,4% (677/702) dos casos eram residentes de área urbana. Após ser avaliado pelo Grupo de Vigilância Epidemiológica de transmissão foi observado a distribuição de casos em: Bauru (24,5%), Araçatuba (23,8%), Presidente Venceslau (19,5%), Marília (18,2%), São José do Rio Preto (10,3%), Jales (3,4%) e Presidente Prudente (0,3%) (Ciaravolo *et al*, 2015).

Assim, a LV humana no estado de São Paulo apresentou expansão a partir de um eixo principal de disseminação, da direção noroeste para sudeste e no sentido da região de Bauru, seguindo a rodovia Marechal Rondon, a ferrovia Novoeste e a construção do gasoduto. Houve também um eixo secundário de disseminação a partir do eixo principal, no sentido sul, para as regiões de Presidente Prudente e Marília, e no sentido norte, para a região de São José do Rio Preto (Cardim *et al*, 2013).

Houve picos de incidência em 2003 na região administrativa de Araçatuba, em 2007 em Presidente Prudente e em 2008 nas regiões de Bauru e Marília, todos seguido de queda. Apenas a região de São José do Rio Preto apresentou taxas de incidência crescentes, porém inferiores às das demais regiões (Cardim *et al*, 2013).

Essa expansão geográfica da leishmaniose visceral em humanos no estado de São Paulo no período de 1999 a 2011 pode estar relacionada há diversos fatores como: o fluxo de pessoas e mercadorias pelas rodovias e ferrovias que interligam as regiões brasileiras e seus centros urbanos, os processos migratórios, a urbanização e as condições precárias de saneamento, o deslocamento de animais infectados, adaptação do vetor, entre outras, além da necessidade de estruturação das equipes de saúde (Antonialli *et al*, 2007, Barata, 2000, Mestre e Fontes, 2007, Scandar *et al*, 2011).

Na cidade de Bauru, localizada na região centro-oeste do estado de São Paulo, desde 2002 a LV é um grande problema de saúde pública. Atualmente apresenta-se como um dos municípios com maior disseminação dos focos naturais de transmissão. Todas as regiões da cidade são endêmicas, muitas com mais de 25% de prevalência de LVC (Secretaria de Estado da Saúde, 2006). Até 2016, o município de Bauru contribuiu com a produção de 19,6% (531/2.712) do total de casos autóctones de LV do estado desde 1999. Em Bauru, a taxa de letalidade geral no período de 2002 até 2016 é de 7,5% (40/531) (<http://www.saude.sp.gov.br/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica-prof.-alexandre-vranjac/>).

1.4.7. Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral.

Desde então e durante muitos anos a leishmaniose visceral foi considerada uma endemia tipicamente rural e, com esse padrão de transmissão, na década de 1940, o Ministério da Saúde estabeleceu as bases de um Programa Nacional de Controle da Leishmaniose Visceral, que em essência permanece até hoje, inclusive no Estado de São Paulo (Costa e Vieira, 2001, Ministério da Saúde, 2006).

De maneira geral, ao longo das décadas que se seguiram esse Programa direcionava suas ações para:

- O controle dos reservatórios caninos com a realização de inquéritos sorológicos e recolhimento e eutanásia dos animais sororreagentes;
- A aplicação de inseticidas para o controle do vetor;
- O diagnóstico e tratamento precoce dos casos humanos.

As estratégias de controle não têm sido capazes de impedir a expansão geográfica e nem reduzir a incidência e letalidade da LV. É necessário uma melhor definição das áreas prioritárias, como também desenvolver e implementar um sistema de monitoramento de trabalho de campo para a vigilância da doença que permita melhor avaliação do

programa de controle em áreas onde a leishmaniose visceral é endêmica (Dantas-Torres e Brandão-Filho, 2006).

A expansão da LV pode ser atribuída a diversos fatores que vão desde falhas das medidas de controle as diferenças inter e intra-urbanas. Diversas limitações sobre as medidas de controles podem ser citadas: dificuldades na eliminação do reservatório; ações insuficientes no controle de vetores (principalmente em relação as alterações do meio ambiente), e alto custo, tanto financeiro como social. Todas estas questões significam que as medidas se concentram principalmente nas áreas mais afetadas, em detrimento das menos afetadas, permitindo assim a propagação geográfica da doença. A diversidade epidemiológica das regiões afetadas, capacidade de adaptação do vetor e muitos outros fatores desconhecidos podem estar contribuindo para propagação da doença (Oliveira, Morais e Machado-Coelho, 2008).

Com os passar dos anos verificou que há uma necessidade de uma maior aproximação entre pesquisadores e trabalhadores da saúde pública com a finalidade de rever as estratégias de controle atuais e definir procedimentos capazes de avaliar com precisão o seu impacto. As atividades do PVCLV foram descentralizadas e agora estão sob a responsabilidade dos municípios, e com essa descentralização o desempenho das equipes locais devem ser monitorados pelo nível central para avaliar e apoiar as atividades desenvolvidas (Dantas-Torres e Brandão-Filho, 2006).

Por razões de várias ordens foi o componente controle do reservatório canino aquele que sempre mereceu a maior atenção e é o componente mais efetivamente trabalhado, sendo executado a partir da realização de inquéritos sorológicos em populações caninas onde exista transmissão autóctone ou suspeita de estabelecimento de focos naturais de transmissão. Os cães soropositivos deveriam ser apreendidos e eutanasiados. De fato, como assinala Oliveira, 2008 a eutanasia de cães infectados é a medida mais barata para se tentar a redução da doença.

Em todos os surtos relatados há presença de cães e não há nenhum relatório na literatura sobre epidemias da leishmaniose visceral sem a presença de cães infectados. Há estudos que correlacionou a distribuição espacial entre casos de LVC e humana, no qual a alta taxa de infecção canina aumentam as chances de transmissão para seres humanos, na presença do vetor (Camargo-Neves *et al*, 2001).

Há diversos fatores que devem ser considerados em relação à eutanásia dos cães soropositivos: a limitação dos testes sorológicos para detecção de anticorpos anti-*Leishmania*; crescente oposição ao recolhimento e eutanásia dos cães soropositivos, especialmente dos proprietários dos animais assintomáticos; falta de evidências de que esta estratégia seja eficaz para a redução da incidência da LVC em todas as áreas onde tem sido utilizada; reposição da população canina; desconhecimento sobre a presença de, outros animais reservatórios para leishmaniose visceral e, mesmo a demora retirada dos cães infectados (Dantas-Torres e Brandão-Filho, 2006).

Há relatos sobre a limitada efetividade da eutanásia de cães soropositivos na redução da LV humana (Dantas-Torres e Brandão-Filho, 2006).

A outra medida proposta para controlar leishmaniose visceral é o controle de vetores, porém é uma medida de alto custo, que requer uma operacionalização mais complexa, e mais insumos e recursos humanos. Maior eficácia dessa medida estaria condicionada ao adequado manejo ambiental como forma de impedir a colonização do vetor. De qualquer forma estas seriam medidas que necessitaria de mudança de comportamentos e hábitos da população e poder público em relação à sanidade do ambiente, com possíveis resultados para médio e longo prazo (Oliveira, Moraes e Machado-Coelho, 2008).

Em relação ao diagnóstico laboratorial da LVC, a partir de 2003, o Ministério da Saúde recomendou o emprego de duas diferentes técnicas para a confirmação sorológica da infecção.

Nos últimos anos houve uma melhora significativa no diagnóstico da LVC. Com a preocupação de utilizar testes sorológicos que tivessem como parâmetros: sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade, o Ministério da Saúde realizou um estudo com a Fiocruz/RJ, no qual validou ao teste rápido imunocromatográfico com uma mistura de proteínas recombinantes (26 e k39) representativas de regiões antigênicas da *L. (i) chagasi*. Até recentemente as técnicas ensaio imunoenzimático (ELISA) e reação de imunofluorescência indireta (RIFI) eram utilizadas para avaliação da soroprevalência da infecção canina nos inquéritos caninos amostrais e censitários, sendo o teste de ELISA indicado como teste de triagem e a RIFI como confirmatório e apresentava uma sensibilidade e especificidade dentro do esperado, entretanto, nessa avaliação que utilizou o teste rápido imunocromatográfico como triagem e o teste de ELISA como confirmatório foram aqueles que demonstraram melhor acurácia (Ministério da Saúde, 2006, Ministério da Saúde, 2011).

O programa de controle da LV implantado pela Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo prioriza as ações sobre os três pilares identificados como estratégicos, à semelhança do programa do Ministério da Saúde; ou seja, identificar e tratar precocemente todos os casos humanos, controlar os reservatórios domésticos de *L.(L.)infantum chagasi*, representados por cães soropositivos e controlar a população de *Lu. longipalpis*.

Atualmente, Bauru, no centro do Estado, área do presente estudo, apresenta-se como um dos municípios com maior disseminação dos focos naturais de transmissão. A endemia é registrada em todas as regiões da cidade, muitas das quais com mais de 20-25% de prevalência de LVC. Em relação à infecção humana, de maneira geral, as ações restringem-se aquelas diretamente direcionadas ao diagnóstico de casos suspeitos sintomáticos (Ministério da Saúde, 2006).

Relevância do Estudo

No Estado de São Paulo, como em todo o Brasil a Leishmaniose Visceral encontra-se em grande expansão, sendo que os princípios que historicamente nortearam os programas de controle estão em constante questionamento. Isso se tem dado tanto pelas dificuldades de ser aceito e colocado em prática, quanto pela não disponibilidade de alternativas técnicas, verdadeiramente avaliadas ou validadas, para o diagnóstico laboratorial e identificação das fontes vertebradas domésticas, seja em áreas rurais seja nas áreas urbanas de grandes cidades.

Em relação à identificação e controle dos reservatórios domésticos, base para a ação de “eliminação” das fontes vertebradas de infecção no ambiente doméstico, que no Programa de Controle de LV no Brasil é considerado como aquele que apresenta o menor suporte técnico-científico (Costa e Vieira, 2001), sendo identificados vários pontos de fragilidade:

- Baixa eficiência da maioria dos testes sorológicos em detectar unicamente a verdadeira infecção canina por *L.(L.) infantum chagasi*;
- Detecção de uma única classe de imunoglobulina (IgG);
- Ausência de padronizações em relação aos diferentes procedimentos para a realização desses testes sorológicos, desde a coleta das amostras, identificação dos animais, tipo de amostra examinada (eluato ou soro sanguíneo), reagentes, antígenos, conjugados, etc.;
- Reconhecida ocorrência, nos testes empregados, de falsos resultados positivos de infecção por *L.(L.) infantum chagasi* em situações de erliquiose, babesiose, leishmaniose tegumentar, doença de Chagas, entre outras;
- Inexistência de um sistema de produção/preparação e fornecimento de painéis de amostras controle de referência que pudessem garantir a qualidade dos resultados obtidos;
- Demora na busca ativa de animais naturalmente infectados, com a realização de inquéritos anuais, expondo os cães a um intervalo de tempo

maior de contato com os flebotomíneos, aumentando o risco para a transmissão canina nas áreas endêmicas;

- A demora na identificação dos cães soropositivos e sua retirada para eutanásia, em torno de 80-180 dias.

- Inexistência de um Programa de Controle de Qualidade do diagnóstico laboratorial da LV canina.

A estratégia proposta para no presente estudo para a identificação dos reservatórios domésticos de *L. (L.) infantum chagasi* foi: a realização de diagnóstico de triagem em campo e o confirmatório em laboratório; busca ativa de casos; participação comunitária durante a execução dos estudos; integração de diferentes órgãos de saúde municipal e estadual; compreensão dos fatores determinantes da expansão e/ou disseminação da endemia, como subsídios para revisão e planejamentos futuros das ações e decisões sobre as estratégias técnicas para o diagnóstico e controle da parasitose em São Paulo e no Brasil.

2.Objetivos.

2.1. Objetivo Geral.

Realizar estudo epidemiológico em coortes de cães que foram aplicadas distintas estratégias para a identificação e controle dos reservatórios caninos de *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* com a realização de inquéritos semestrais e anuais em áreas endêmicas para a leishmaniose visceral no Município de Bauru no Estado de São Paulo, Brasil.

2.2 Objetivos Específicos.

- Determinar as taxas de prevalência e incidência da leishmaniose visceral canina a partir da realização de inquéritos sorológicos, semestrais ou anuais, para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina.
- Estimar a taxa de soroconversão dos animais ao longo do seguimento;
- Avaliar a taxa de entrada de novos animais e reposição canina em cada novo inquérito realizado e no período total dos estudos;
- Avaliar a efetividade das estratégias para a identificação semestral ou anual dos reservatórios naturais de *L. infantum chagasi* na redução da prevalência da infecção canina.
- Avaliar tempo de exposição e número de cães por domicílio como fatores de risco para a infecção canina por *L. infantum. chagasi*
- Identificar a presença de características ambientais favoráveis à colonização de flebotomíneos em domicílios com presença de cães soropositivos.

3. Material e métodos.

3.1 Delineamento do estudo e estudo de coorte.

Para o delineamento do estudo considerou-se a necessidade de seguimento, no tempo a evolução dos valores de prevalência da LVC em diferentes bairros de Bauru, município classificado como de transmissão intensa para essa parasitose (Ciaravolo *et al*, 2015).

Trata-se de um estudo retrospectivo de coorte por domicílios dos bairros estudados. O estudo foi realizado em quatro bairros: Santa Terezinha, Parque Manchester, Jardim Vanuire e Jardim Helena. Nos dois primeiros bairros os inquéritos foram realizados a cada 6 meses para mais rapidamente identificar e retirar os animais infectados. Nos outros dois bairros foram executados a cada 12 meses, como preconizado pelos Programas de Vigilância e Controle da LV (PVCLV), possibilitando a comparação entre as duas situações e o possível impacto na redução da prevalência canina. A segunda ação foi a definição de um intervalo máximo de 20 dias entre a coleta da amostra de sangue, realização do diagnóstico laboratorial, emissão do laudo com os resultados e, posterior recolhimento e eutanásia dos animais soropositivos nos quatro bairros.

Neste estudo as coortes de cães foram acompanhadas durante o período de 2008 a 2012 nos bairros Santa Terezinha e Parque Manchester e de 2010 a 2012 nos bairros Jardim Vanuire e Jardim Helena.

A partir do primeiro inquérito, foi determinada a prevalência inicial da LV canina em cada um dos bairros, e iniciado o seguimento destas populações com os registros de entradas e saídas de animais, formando assim coortes abertas, observada no período acima relatado.

Nos bairros Santa Terezinha e Parque Manchester, além das ações preconizadas pelo Programa de Vigilância e Controle da LV (PVCLV) (SES, 2006 – Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral Americana), foram realizados inquéritos sorológicos semestrais para a

identificação dos cães infectados. Nesses bairros foram realizados oito inquéritos no período de 2008 a 2012. Nos bairros Jardim Vanuire e Jardim Helena, as ações de controle seguiram o PVCLV, com a realização de inquéritos sorológicos anuais, sendo realizados apenas três inquéritos no período de 2010 a 2012.

A seguir é apresentado de forma esquemática o delineamento do estudo e das ações realizadas no desenvolvimento do presente estudo (Figura 7).

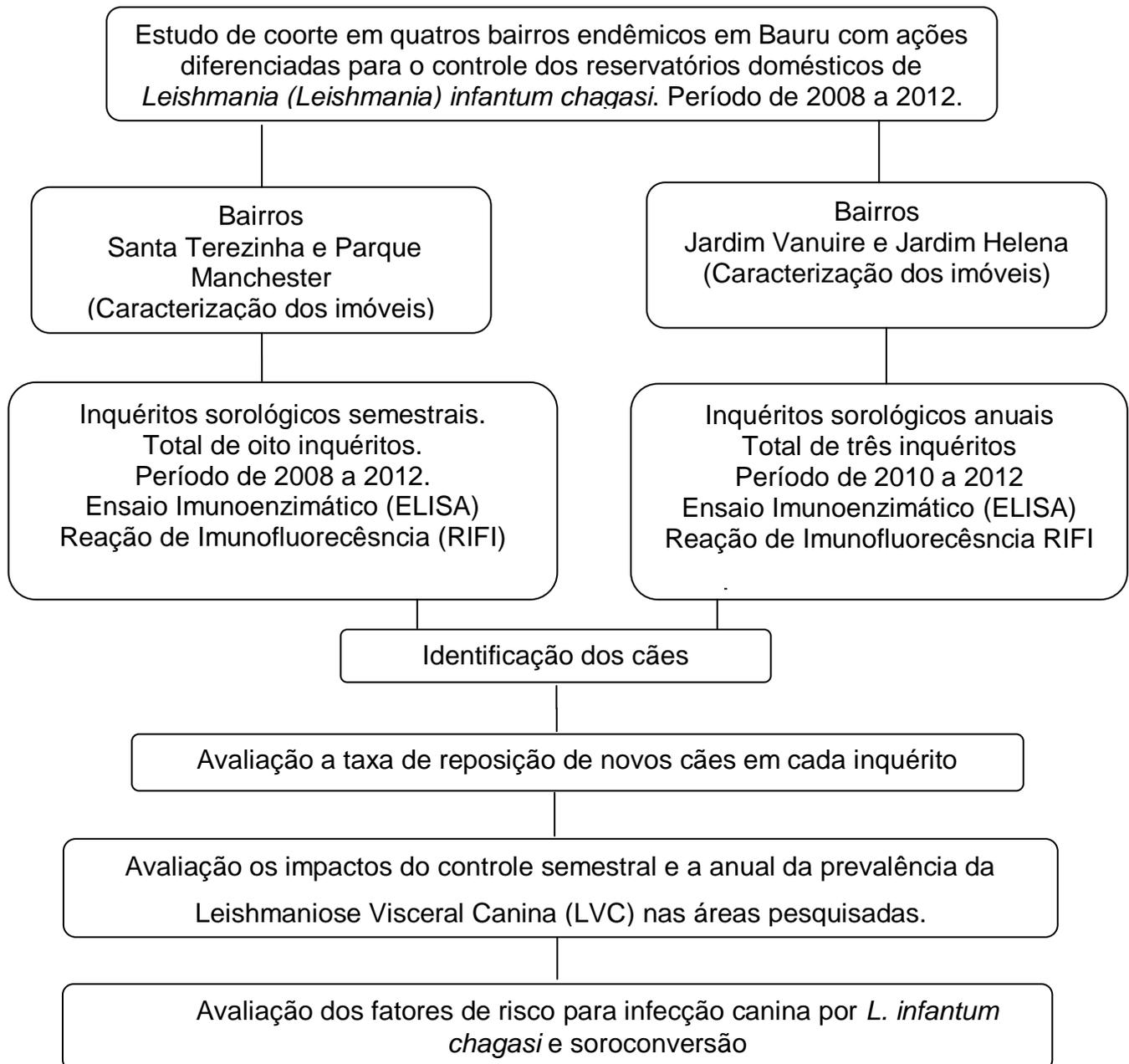


Figura 7 – Delineamento do estudo

3.2. Região e áreas de estudo.

Área e população do estudo

Bauru é um município da região central do estado de São Paulo (22 ° 18'52 "S, 49 ° 03'31" W) com área 702 km² e 17% perímetro urbano. A altitude média é de 527,4m. Possui uma população estimada de 364.562 mil habitantes (2015). O clima é classificado como subtropical úmido (Cfa), com verões húmidos e quentes e invernos amenos. O solo é classificado como textura arenosa insaturada, avermelhada e castanha escura, de argila fina, subjacente ao arenito do grupo de Bauru. A vegetação na área urbana é a Floresta Semidecidual Tropical, misturada com Cerrado, mas sua presença é fortemente impactada por um padrão variável de urbanização (Figura 8).

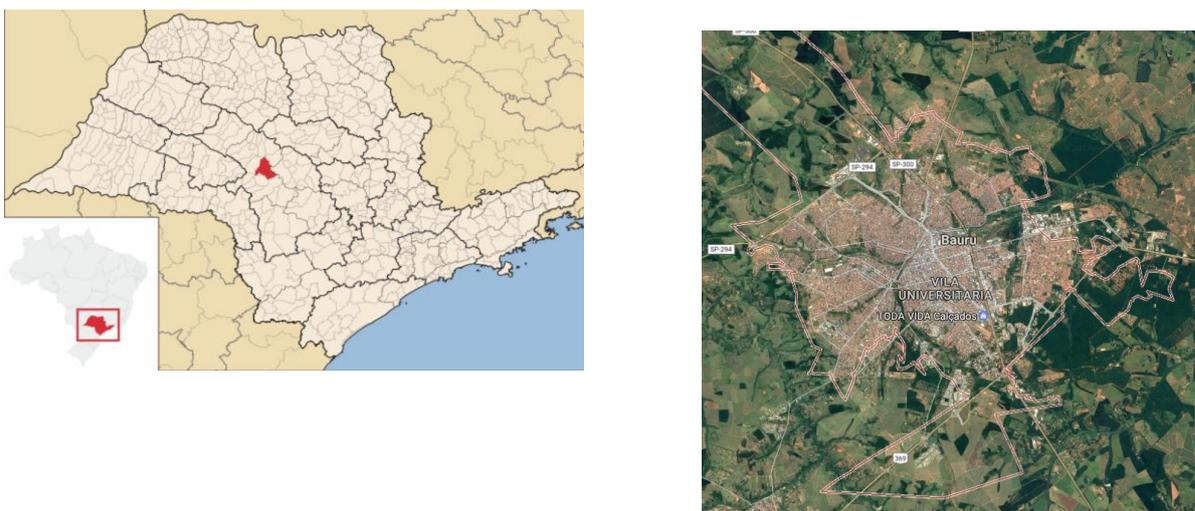


Figura 8 – Mapa de localização do município de Bauru no estado de São Paulo e imagem de satélite.

Fonte: www.bauru.sp.gov.br

www.google.com/maps/place/Bauru,+SP,+Brasil

A população de cães foi estimada em 91.140, com base na população pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (2015). Esse número foi estimado a partir de uma pesquisa realizada em 20.958 casas no interior do estado de São Paulo, com 52,6% de propriedade comprovada de

cães, com média de 1,6 cães em casa e uma proporção de habitante de 1: 4 (Alves et al., 2005).

As áreas estudadas foram:

Bairros urbanos - Jardim Vanuire e Jardim Helena - áreas urbanizadas e pavimentadas sem contato com áreas de mata ou córregos. Esses bairros foram estudados entre 2010 e 2012, com a realização de inquéritos soroepidemiológico anuais para diagnóstico da LV canina, seguindo as estratégias do PVCLV, incluindo os animais domiciliados.. Estão localizados na parte urbana do município de Bauru, classificados como de transmissão intensa da LV humana.

Bairros em área de mata - Santa Terezinha e Parque Manchester – estão localizados nos arredores da reserva Eneas de Carvalho Aguiar, na periferia do município. Esses bairros, embora contíguos, apresentam características diferentes. O bairro Santa Terezinha apresenta um padrão urbano com ruas pavimentadas, blocos bem definidos e casas de alvenaria. O Parque Manchester apresenta características de ocupação territorial recente e peri-urbano, com ruas sem pavimentação, muitos animais, casas em construção, barracas e algumas terras desocupadas durante o período dos estudos. Esses bairros foram pesquisados de 2008 a 2012, com a realização de inquéritos semestrais para diagnóstico da LV canina, seguindo as estratégias do PVCLV, incluindo os animais domiciliados. A escolha dos bairros Santa Terezinha e do Parque Manchester para realizar as intervenções de pesquisa se deu por circunstâncias da identificação de cães naturalmente infectados nessa região, circulando no interior de um hospital de referência para dermatologia e hanseníase, que registra um grande fluxo de pacientes e acompanhantes. Foram também escolhidos em razão das comunidades dos dois bairros habitarem o entorno da reserva florestal.

3.3. Coleta, preparação, registro e fluxo das amostras das amostras.

As amostras caninas foram coletadas no município de Bauru pela equipe de pesquisa do Centro de Parasitologia e Micologia do Instituto Adolfo Lutz, por um profissional veterinário. Todas as amostras foram identificadas e registradas em boletim de coleta e registro de exame laboratorial em atividade de inquérito canino - leishmaniose visceral.

O consentimento para a coleta de amostras envolvendo cães domésticos foi fornecido pelos proprietários dos cães nas áreas pesquisadas. O diagnóstico clínico de todos os cães foi realizado pelos médicos veterinários do Instituto Adolfo Lutz.

A coleta das amostras foi realizada por punção venosa, num volume aproximadamente de 2 a 5 ml de sangue total, de acordo com o porte do animal; mantido em temperatura ambiente até a coagulação e retração visível do coágulo. Depois estas amostras foram centrifugadas a 3.000 r.p.m., durante cinco minutos, para melhor separação do soro.

Todas as amostras foram encaminhadas para o Instituto Adolfo Lutz Central onde foi realizado o diagnóstico laboratorial com os testes de ensaio imunoenzimático (ELISA) e imunofluorescência indireta (RIFI). À época da realização do estudo o Ministério da Saúde preconizava a realização do teste de ELISA para o diagnóstico de triagem e o teste de imunofluorescência como teste confirmatório, atualmente, o protocolo do diagnóstico da LVC utiliza o teste rápido imunocromatográfico como triagem e o teste de ELISA como confirmatório.

Seguindo a orientação do PCLV no estado de São Paulo, todos os animais identificados como naturalmente infectados deveriam ser recolhidos ao Centro de Zoonoses de Bauru e submetidos à eutanásia (São Paulo, Secretaria de Estado da Saúde, 2006), respeitados os princípios estabelecidos na Resolução nº 714 de 20 de junho de 2002, do Conselho Federal de Medicina Veterinária.

3.4. Avaliação sorológica.

3.4.1. Diagnóstico em campo:

3.4.1.1. Diagnóstico clínico para a leishmaniose visceral canina.

O diagnóstico clínico para a LVC foi realizado por Médico Veterinário do Instituto Adolfo Lutz, para registro de presença ou ausência de sinais clínicos, possibilitando classificá-los como "com sinais clínicos e sem sinais clínicos".

Os sinais clínicos para LCV mais comum são: linfadenopatia, emaciação, sinais possíveis de insuficiência renal (poliúria, polidipsia, vômito), neuralgia, poliartrite, poliomyosite, e outros sinais clínicos; sendo que aproximadamente um terço dos pacientes apresenta febre e esplenomegalia. Dentre os sinais cutâneos podemos citar hiperqueratose, pelagem seca e quebradiça, perda de pelos, e unhas anormalmente longas quebradiças. (Tilley e Smith , 2008)

3.4.2. Diagnóstico laboratorial.

3.4.2.1. Ensaio imunoenzimático.

Ensaio imunoenzimático – O kit EIE-BioManguinhos (utilizado no PVCLV pela Secretaria de Saúde de São Paulo e Ministério da Saúde) consiste na reação de antígenos solúveis purificados de promastigotas de *Leishmania* obtidos de culturas, adsorvidos nas cavidades de microplacas, com os anticorpos específicos para *Leishmania* presentes nas amostras de soro sanguíneo, devidamente diluídas. Essa reação é evidenciada, numa etapa seguinte, com um conjugado anti-imunoglobulina total de cão marcada com a enzima peroxidase e uma substância cromógena (Tetrametilbenzidina – TMB) que pela ação da peroxidase com peróxido de hidrogênio formam um composto de cor azul, que ao se adicionar ácido sulfúrico, passa a ter coloração amarela, indicando a presença de anticorpos específicos, caso

reagente (positivo). Nas cavidades da placa onde não houver desenvolvimento de cor, indicação da ausência de anticorpos específicos, não reagente (negativo). A observação da intensidade de cor é realizada num espectrofotômetro Multiscan com o emprego de filtro 450 nm e os valores de corte (“Cut-off” = CO): CO = média dos controles negativos vezes dois.

3.4.2.2. Reação de imunofluorescência indireta.

Reação de imunofluorescência indireta – O kit IFI-BioManguinhos (utilizado no PVCLV pela Secretaria de Saúde de São Paulo e Ministério da Saúde) consiste na reação de anticorpos específicos para *Leishmania* possivelmente presentes nas amostras de soro sanguíneos diluídas a partir de 1: 40, com o antígeno de *Leishmania* (formas promastigotas) fixado em lâminas de microscopia específicas para essa prova. Na etapa seguinte é adicionado um conjugado anti-Imunoglobulina total de cão marcado com fluoresceína. A reação é evidenciada em um microscópio de imunofluorescência, sendo consideradas reagentes as amostras que apresentaram as formas promastigotas fluorescentes e não reagentes as amostras que não apresentaram a fluorescência dos parasitas, tendo-se como referência os soros controles positivo e negativo incluídos em cada lâmina. As leituras são realizadas em um microscópio Nikon Eclipse E 400 dotado de epi-iluminação com lâmpada de halogênio 12 V 100W , objetiva de 40x e ocular de 10 x.

Desfecho do caso de LVC os casos foram confirmados no final da aplicação RIFI e teste de diagnóstico ELISA, rotineiramente utilizados no programa oficial de controle da leishmaniose visceral na Secretaria de Saúde de São Paulo. A prevalência foi calculada com base no resultado, sendo o numerador o número de cães positivos e o denominador o número de cães dos quais foram coletadas as amostras de sangue no inquérito.

3.5. Análise ambiental.

Antes de cada inquérito, foram registradas em planilhas as informações relativas ao diagnóstico ambiental – DIAGAMBI, no domicílio e peridomicílio, para os quatro bairros incluídos nos estudos. Essas características são: presença de vegetação, matéria orgânica (folha e frutos, fezes de animais, esterco para adubo) e presença ou ausência de cães e de outros animais. Segundo Silva et al, 2012 e, mesmo o PVCLV essas características ambientais poderiam ser definidas como fatores de risco relacionados a LV e a colonização dos vetores. Neste estudo foi identificada a presença de tais características nos domicílios com presença de animais infectados das casas que os cães tiveram soroconversão ao logo dos inquéritos nos bairros Santa Terezinha e Parque Manchester.

3.6. Análise estatística

Para a realização das avaliações estatísticas optou-se por modelo de análise em que foram considerados:

I - Análise global dos conjuntos dos resultados e registros para todos os quatro bairros;

II – Análise estratificada dos conjuntos de resultados e registros observados para os bairros com realização de inquéritos caninos semestrais frente ao obtido para os bairros com inquéritos anuais.

I - Análise global - todos os quatro bairros:

Foram realizadas análises descritivas, calculando médias e desvio-padrão para as variáveis contínuas e porcentagens para as variáveis categóricas.

Em relação aos cães foi analisada a associação dos dados com variáveis explicativas, tais como: sexo; idade; raça; tamanho de pelo; porte dos animais e sintomas usando o software SPSS (IBM Corp. Released 2013, 2013). Para tal, foi utilizado o teste qui-quadrado para verificar o valor da

dispersão das variáveis duas a duas. Todas variáveis foram categorizadas com dois cortes, um acima e outro abaixo do valor da mediana. Adotou-se o valor de $p \leq 0.05$, intervalo de confiança de 95%.

II - Análise estratificada - bairros com inquéritos semestrais frente aos bairros com inquéritos anuais:

Foram realizadas análises de associação entre variáveis categóricas pela utilização do teste de qui quadrado para verificação do valor da dispersão das variáveis duas a duas, a partir de tabela de contingência 2x2. Foram avaliados dados relativos aos imóveis quanto à presença ou ausência de cães; presença de cães examinados e positivos para LV; resultados observados nos inquéritos caninos semestrais e anuais; taxa de soroconversão; taxas de entrada e/ou reposição canina ao longo da realização dos estudos. Adotou-se o valor de $p \leq 0.05$, intervalo de confiança de significância de 95%.

Para o cálculo do risco relativo (RR) e odds ratio para as variáveis - tempo de exposição dos cães no ambiente de transmissão e, número de animais por domicílio foi utilizado:

$$RR = \frac{a/(a+b)}{c/(c+d)} \qquad OR = \frac{a/b}{c/d} = \frac{a \times d}{b \times c}$$

Adotou-se o valor de $p \leq 0.05$, intervalo de confiança de significância de 95%.

3.7. Aspectos de éticos.

O Projeto de Pesquisa que resultou nesta dissertação foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto Adolfo Lutz – CEUA-IAL, número 01/2014.

4. Resultados.

Na realização do presente estudo, foram incluídos imóveis de quatro bairros do município de Bauru, com classificação de transmissão intensa para a LV no estado de São Paulo.

Nas áreas estudadas incluiu-se um total de 1.665 imóveis, dos quais 1.385 casas, dessas 718 com presença de cães e 667 sem cães; outros 280 imóveis identificados como terrenos baldios (Tabela 1 e Figura 9).

Tabela 1 - Características dos imóveis.

| Bairros | Casas | | | | Terrenos baldios | | Total de imóveis |
|-------------------|----------------|--------------------|----------------|-------------|------------------|-------------|------------------|
| | Casas com cães | | Casas sem cães | | No. | % (imóveis) | No. |
| | No. | % (casas com cães) | No. | % (casas) | | | |
| Santa Terezinha | 187 | 52,5 | 142 | 39,9 | 27 | 7,6 | 356 |
| Parque Manchester | 149 | 34,3 | 159 | 36,6 | 127 | 29,2 | 435 |
| Jardim Helena | 135 | 33,0 | 171 | 41,8 | 103 | 25,2 | 409 |
| Jardim Vanuire | 247 | 53,1 | 195 | 41,9 | 23 | 4,9 | 465 |
| Total | 718 | 43,1 | 667 | 40,1 | 280 | 16,8 | 1665 |

Quando considerados os conjuntos de imóveis com e sem cães existentes nos bairros Santa Terezinha e Parque Manchester com aqueles dos bairros Jardim Helena e Jardim Vanuire, foi observado valor de qui quadrado de 0,3879, não significativo para $p \leq 0.05$.

No total, 556 (78,8%) dos imóveis com presença de cães tiveram seus animais examinados ao longo do período de estudo, segundo o grupo

experimental a que estiveram incluídos, demonstrando que maior parte das casas com cães foram examinados. (Tabela 2).

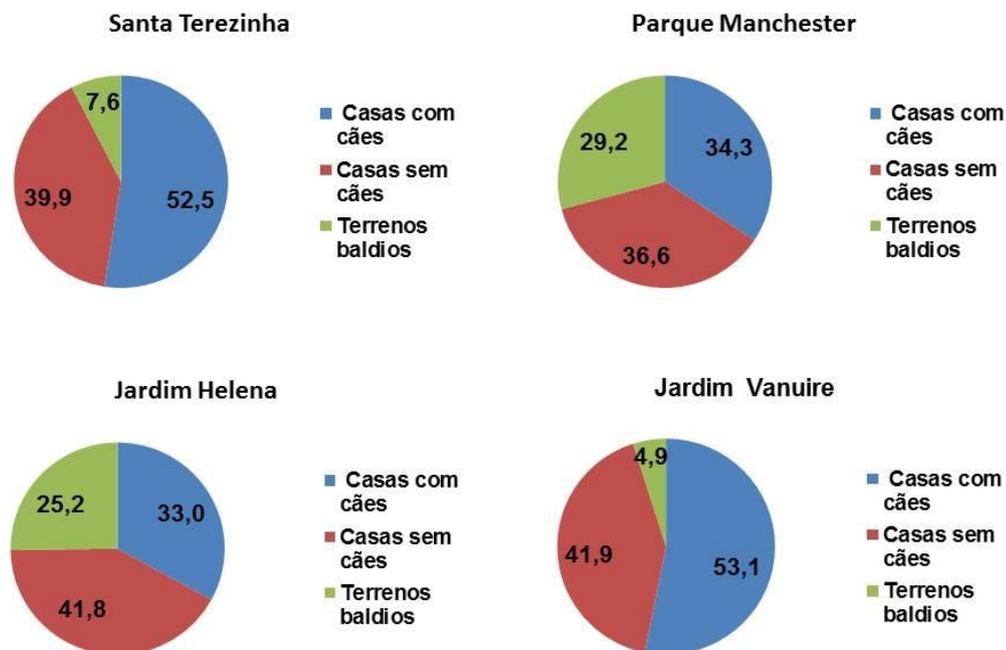


Figura 9 – Porcentagem de imóveis, com cães, sem cães e terrenos baldios, nos bairros de Santa Terezinha, Parque Manchester, Jardim Helena e Jardim Vanuire, no município de Bauru, Estado de São Paulo. (2008 - 2012).

Tabela 2 - Quantitativo de imóveis com cães incluídos no estudo.

| Bairros | Casas com cães | | | | |
|-------------------|----------------|--------------------|----------------|--------------------|-------|
| | Examinados | | Não examinados | | Total |
| | No. | % (total de casas) | No. | % (total de casas) | No. |
| Santa Terezinha | 160 | 85,6 | 27 | 14,4 | 187 |
| Parque Manchester | 111 | 74,5 | 38 | 25,5 | 149 |
| Jardim Helena | 113 | 83,7 | 22 | 16,3 | 135 |
| Jardim Vanuire | 182 | 73,7 | 65 | 26,3 | 247 |
| Total | 566 | 78,8 | 152 | 21,2 | 718 |

Quando considerados apenas os conjuntos de imóveis com cães examinados e não examinados, existentes nos bairros Santa Terezinha e Parque Manchester com aqueles dos bairros Jardim Helena e Jardim Vanuire, foi observado valor de qui quadrado de 1,26, não significativo para $p \leq 0.05$.

Nas áreas de estudo, nos imóveis com registro da presença de cães foi identificado um total de 1.493 animais, dos quais 1.302 (87,2%) compuseram as coortes examinadas nos ciclos semestral ou anual de realização dos inquéritos soroepidemiológicos para o diagnóstico da LVC (Tabela 3 e Figura 10).

Tabela 3 – Quantitativo de cães examinados e não examinados dos quatros bairros.

| Bairros | Cães – Quantitativo | | | | |
|-------------------|---------------------|------|----------------|------|-------|
| | Examinados | | Não examinados | | Total |
| | No. | % | No. | % | No. |
| Santa Terezinha | 478 | 93,4 | 34 | 6,6 | 512 |
| Parque Manchester | 324 | 82,0 | 71 | 18,0 | 395 |
| Jardim Vanuire | 329 | 86,8 | 50 | 13,2 | 379 |
| Jardim Helena | 171 | 82,6 | 36 | 17,4 | 207 |
| Total | 1302 | 87,2 | 191 | 12,8 | 1493 |

Quando considerados os conjuntos de cães examinados e não examinados existentes nos bairros Santa Terezinha e Parque Manchester com aqueles dos bairros Jardim Helena e Jardim Vanuire, foi observado valor de qui quadrado de 3,0648, não significativo para $p \leq 0.05$.



Figura 10 – Porcentagem de imóveis, com cães examinados e não examinados nos bairros de Santa Terezinha, Parque Manchester, Jardim Helena e Jardim Vanuire no município de Bauru, Estado de São Paulo (Período, 2008-2012).

Na Tabela 4 são apresentadas as características gerais do conjunto de animais, de todos os bairros (Santa Terezinha, Parque Manchester, Jardim Helena e Jardim Vanuire), incluídos nos estudos realizados no município de Bauru, São Paulo. Os registros estão distribuídos segundo os resultados finais para o diagnóstico da LVC. Para fins de análise foram considerados: porte dos animais, tamanho de pelo, inquérito soropidemiológico, sintomatologia, sexo, grupo etário.

Tabela 4. Características gerais dos cães dos quatro bairros (Santa Terezinha, Parque Manchester, Jardim Helena e Jardim Vanuire) incluídos no estudo de coorte, dos quatro bairros. Município de Bauru, Brasil, 2008-2012.

| Variável | Resultado final (%) | | Total (%) |
|-----------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------|
| | Número de cães negativos | Número de cães positivos | |
| Porte | | | |
| Filhote | 186 (10,36) | 16 (9,36) | 225 (10,41) |
| Pequeno | 575 (32) | 51 (29,82) | 676 (31,27) |
| Médio | 731 (40,7) | 63 (36,84) | 879 (40,66) |
| Grande | 303 (16,87) | 41 (23,89) | 380 (17,58) |
| NIF* | 1 (0,06) | | 2 (0,09) |
| Pêlo | | | |
| Curto | 785 (43,7) | 90 (52,63) | 951 (43,99) |
| Longo | 359 (19,99) | 28 (16,37) | 421 (19,47) |
| NIF | 652 (36,3) | 53 (30,99) | 790 (36,54) |
| Inquérito | | | |
| Primeiro | 347 (19,32) | 51 (29,82) | 409 (18,92) |
| Segundo | 305 (16,98) | 27 (15,79) | 380 (17,58) |
| Terceiro | 331 (18,43) | 28 (16,37) | 383 (17,72) |
| Quarto | 150 (8,35) | 3 (1,75) | 162 (7,49) |
| Quinto | 170 (9,47) | 9 (5,26) | 193 (8,93) |
| Sexto | 145 (8,07) | 20 (11,7) | 224 (10,36) |
| Sétimo | 181 (10,08) | 22 (12,87) | 220 (10,18) |
| Oitavo | 167 (9,3) | 11 (6,43) | 191 (8,83) |
| Sinais clínicos | | | |
| Sem sinais | 1517 (84,47) | 112 (65,5) | 1795 (83,02) |
| Com sinais | 279 (15,53) | 59 (34,5) | 367 (16,98) |
| Sexo | | | |
| Fêmea | 967 (53,84) | 83 (48,54) | 1131 (52,31) |
| Macho | 829 (46,16) | 88 (51,46) | 1031 (47,69) |
| Grupos- Idade (anos) | | | |
| <3 | 878 (48,89) | 76 (40,44) | 1038 (48,01) |
| ≥3 <8 | 622 (34,63) | 70 (40,94) | 767 (35,48) |
| ≥8 | 141 (7,85) | 11 (6,43) | 163 (7,54) |
| NIF | 155 (8,63) | 13 (7,6) | 194 (8,97) |

*NIF: não informado

Nas Tabelas 5, 6, 7, 8 e 9, com base no número de amostras sanguíneas examinadas estão apresentados: o total de amostras examinadas ao longo dos estudos; os resultados finais, por método diagnóstico utilizado e prevalência geral e por bairros dos animais soropositivos para LV canina.

Tabela 5. Total de amostras sanguíneas coletadas dos cães presentes nos imóveis dos quatro bairros do município de Bauru, São Paulo, 2008-2012. n=2162.

| Bairro | Amostras examinadas | Porcentagem |
|--------------------------|----------------------------|--------------------|
| Jardim Helena | 201 | 9.3 |
| Parque Manchester | 618 | 28.6 |
| Santa Terezinha | 886 | 41.0 |
| Jardim Vanuíre | 457 | 21.1 |
| Total | 2162 | 100 |

Tabela 6. Resultados finais e prevalência geral para o diagnóstico da LV canina, distribuídos segundo bairro de residência dos animais. Município de Bauru, São Paulo, 2008-2012. n=2162.

| Bairro | Negativo | Positivo | Total | Prevalência |
|--------------------------|-----------------|-----------------|--------------|--------------------|
| Jardim Helena | 180 | 21 | 201 | 10.4 |
| Parque Manchester | 572 | 46 | 618 | 7.4 |
| Santa Terezinha | 826 | 60 | 886 | 6.8 |
| Vanuíre | 413 | 44 | 457 | 9.6 |
| Total | 1991 | 171 | 2162 | 7.9 |

Tabela 7. Resultados finais para o diagnóstico da LV canina, distribuídos segundo método diagnóstico utilizado e por inquérito. n=2162. Não incluídas amostras com resultado zona cinza (ELISA).

| | | Inquéritos | | | | | | | | Total |
|-------|----------|------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | |
| ELISA | Negativo | 345 | 284 | 317 | 149 | 170 | 145 | 181 | 164 | 1755 |
| | Positivo | 50 | 72 | 50 | 11 | 21 | 69 | 37 | 24 | 334 |
| RIFI | Negativo | 358 | 353 | 355 | 159 | 184 | 204 | 198 | 180 | 1991 |
| | Positivo | 51 | 27 | 28 | 3 | 9 | 20 | 22 | 11 | 171 |

Tabela 8. Prevalência de resultados positivos para o diagnóstico para a LV canina, distribuídos por bairros e por inquérito, tendo como base o total realizado em cada bairro e, como denominador a soma dos valores dos diferentes inquéritos. n=2162.

| Inquérito | Jardim Helena | Parque Manchester | Santa Terezinha | Vanuíre |
|-----------|---------------|-------------------|-----------------|---------|
| Primeiro | 1.5 | 3.2 | 2.0 | 5.9 |
| Segundo | 1.3 | 0.8 | 1.8 | 3.2 |
| Terceiro | 2.6 | 0.8 | 1.8 | 2.1 |
| Quarto | | 0.6 | 1.2 | |
| Quinto | | 1.6 | 3.1 | |
| Sexto | | 3.6 | 5.4 | |
| Sétimo | | 5.0 | 5.0 | |
| Oitavo | | 2.1 | 3.7 | |

Tabela 9. Prevalência de resultados positivos para o diagnóstico para a LV canina, distribuídos por bairros e por inquérito, tendo como base o total realizado em cada bairro tendo cada um dos inquéritos. n=2162.

| Inquérito | Jardim Helena | Parque Manchester | Santa Terezinha | Jd. Vanuíre |
|------------------|----------------------|--------------------------|------------------------|--------------------|
| Primeiro | 9.0 | 26.0 | 6.3 | 35.8 |
| Segundo | 6.7 | 5.5 | 6.7 | 16.0 |
| Terceiro | 16.9 | 4.6 | 6.3 | 13.6 |
| Quarto | | 1.7 | 1.9 | |
| Quinto | | 3.9 | 5.2 | |
| Sexto | | 7.5 | 10.3 | |
| Sétimo | | 9.9 | 10.1 | |
| Oitavo | | 4.3 | 7.2 | |

Ao final das análises estatísticas incluindo a regressão logística binária, realizadas de forma global, relativamente aos resultados e registros para todas as variáveis acima assinaladas, para o conjunto dos quatro bairros, não foi observado nenhuma associação estatística significativa entre as variáveis explicativas no presente modelo de análise para sexo, grupos etários, tamanho do pelo, porte do animal e diagnósticos nos diferentes inquéritos soropidemiológicos.

Nas Tabelas, 10,11,12,13 e Figura 11 são apresentados os registros referentes ao quantitativo de animais e amostras examinadas nos diferentes inquéritos epidemiológicos realizados para o diagnóstico da LV canina, em cada um dos quatro bairros do município de Bauru, estado de São Paulo. São registrados ainda, o quantitativos de animais novos, ingressantes em cada inquérito e, também os valores observados de soroconversão positiva para anticorpos anti-*Leishmania*, para animais até então soronegativos em inquérito(s) anterior(es).

Tabela 10 - Coorte de cães incluídos em estudos sobre LV no Bairro Santa Terezinha, município de Bauru, estado de São Paulo. Distribuição dos animais, amostras examinadas, resultados, soroconversão, taxa de entrada e reposição canina.

| Bairro | Inquéritos | Quantidade amostras | Cães dos inquéritos anteriores | Cães novos por inquérito | Cães positivos total | Prevalência % | Soroconversão | Cães positivos novos | Taxa de soroconversão | Taxa de reposição ou entrada de animais novos |
|---------------|------------|---------------------|--------------------------------|--------------------------|----------------------|---------------|---------------|----------------------|-----------------------|---|
| St. Terezinha | 1 | 127 | 0 | 127 | 8 | 6,3 | 0 | 8 | 0 | 100 |
| | 2 | 105 | 50 | 55 | 7 | 6,7 | 4 | 3 | 8 | 52,4 |
| | 3 | 112 | 59 | 53 | 7 | 6,3 | 3 | 4 | 5,1 | 47,3 |
| | 4 | 103 | 66 | 37 | 2 | 1,9 | 1 | 1 | 1,5 | 35,9 |
| | 5 | 116 | 66 | 50 | 6 | 5,2 | 5 | 1 | 7,6 | 43,1 |
| | 6 | 117 | 71 | 47 | 12 | 10,3 | 7 | 5 | 9,9 | 40,2 |
| | 7 | 109 | 45 | 64 | 11 | 10,1 | 7 | 3 | 15,5 | 58,7 |
| | 8 | 97 | 52 | 45 | 7 | 7,2 | 2 | 5 | 4,8 | 41,3 |
| Total | 886 | 409 | 478 | 60* | 12,5 | 29 | 30 | 7,1 | 53,95 | |

*Total de Positivos analisados = 60

Total de animais positivos analisados = 59 (um cão positivo que não foi retirado no 6 inquérito e presente no inquérito seguinte)

Tabela 11 - Coorte de cães incluídos em estudos sobre LV no Bairro Parque Manchester, município de Bauru, estado de São Paulo. Distribuição dos animais, amostras examinadas, soroconversão, taxa de entrada e reposição canina.

| Bairro | Inquéritos | Quantidade amostras | Cães dos inquéritos anteriores | Cães novos por inquérito | Cães positivos total | Prevalência % Soroconversão | Cães positivos novos | Taxa de soroconversão | Taxa de reposição ou entrada de animais novos |
|------------|------------|---------------------|--------------------------------|--------------------------|----------------------|-----------------------------|----------------------|-----------------------|---|
| Manchester | 1 | 50 | 0 | 50 | 13 | 26,0 | 13 | 0 | 100 |
| | 2 | 55 | 21 | 34 | 3 | 5,5 | 2 | 4,8 | 61,8 |
| | 3 | 65 | 34 | 31 | 3** | 4,6 | 2 | 0 | 47,7 |
| | 4 | 59 | 43 | 18 | 1**** | 1,7 | 0 | 0 | 30,5 |
| | 5 | 77 | 41 | 36 | 3 | 3,9 | 2 | 2,4 | 46,7 |
| | 6 | 108 | 49 | 59 | 8 | 7,4 | 3 | 10,2 | 54,6 |
| | 7 | 111 | 62 | 50 | 11**** | 9,9 | 3 | 11,3 | 45,0 |
| | 8 | 94 | 48 | 45 | 4 | 4,3 | 1 | 6,3 | 47,9 |
| Total | 618 | 298 | 324 | 46* | 7,4 | 26 | 5,7 | 52,4 | |

*Total de Positivos analisados = 46

Total de animais positivos analisados = 43 - **3 inquérito = 3 positivos (1 cão do 1º inquérito que não foi retirado e dois cães novos

*** cão positivo do 3º inquérito não retirado e presente no 4º inquérito

**** cão positivo do 6º inquérito não retirado e presente no 7º inquérito

Tabela 12 - Coorte de cães incluídos em estudos sobre LV no Bairro Jardim Helena, município de Bauru, estado de São Paulo. Distribuição dos animais, amostras examinadas, resultados, soroconversão, taxa de entrada e reposição canina.

| Bairro | Inquéritos | Quantidade amostras | Cães dos inquéritos anteriores | Cães novos por inquérito | Cães positivos total | Prevalência % | Soroconversão | Cães positivos novos | Taxa de soroconversão | Taxa de reposição ou entrada de animais novos |
|------------|------------|---------------------|--------------------------------|--------------------------|----------------------|---------------|---------------|----------------------|-----------------------|---|
| Jd. Helena | 1 | 67 | 0 | 67 | 6 | 9,0 | 0 | 6 | 0 | 100 |
| | 2 | 75 | 13 | 62 | 5 | 6,7 | 1 | 4 | 7,7 | 82,6 |
| | 3 | 59 | 18 | 42 | 10 | 16,9 | 4 | 6 | 22,2 | 71,2 |
| | Total | 201 | 31 | 171 | 21 | 10,4 | 5 | 16 | 16,1 | 85,1 |

Tabela 13 - Coorte de cães incluídos em estudos sobre LV no Bairro Jardim Vanuire, município de Bauru, estado de São Paulo. Distribuição dos animais, amostras examinadas, resultados, soroconversão, taxa de entrada e reposição canina.

| Bairro | Inquéritos | Quantidade amostras | Cães dos inquéritos anteriores | Cães novos por inquérito | Cães positivos total | Prevalência % | Soroconversão | Cães positivos novos | Taxa de soroconversão | Taxa de reposição ou entrada de animais novos |
|-------------|------------|---------------------|--------------------------------|--------------------------|----------------------|---------------|---------------|----------------------|-----------------------|---|
| Jd. Vanuire | 1 | 165 | 0 | 165 | 24 | 14,5 | 0 | 24 | 0 | 100 |
| | 2 | 145 | 53 | 92 | 12 | 8,3 | 1 | 11 | 1,9 | 63,4 |
| | 3 | 147 | 73 | 74 | 8 | 5,4 | 1 | 7 | 1,4 | 50,34 |
| | Total | 457 | 126 | 331 | 44 | 9,6 | 2 | 42 | 1,6 | 72,4 |

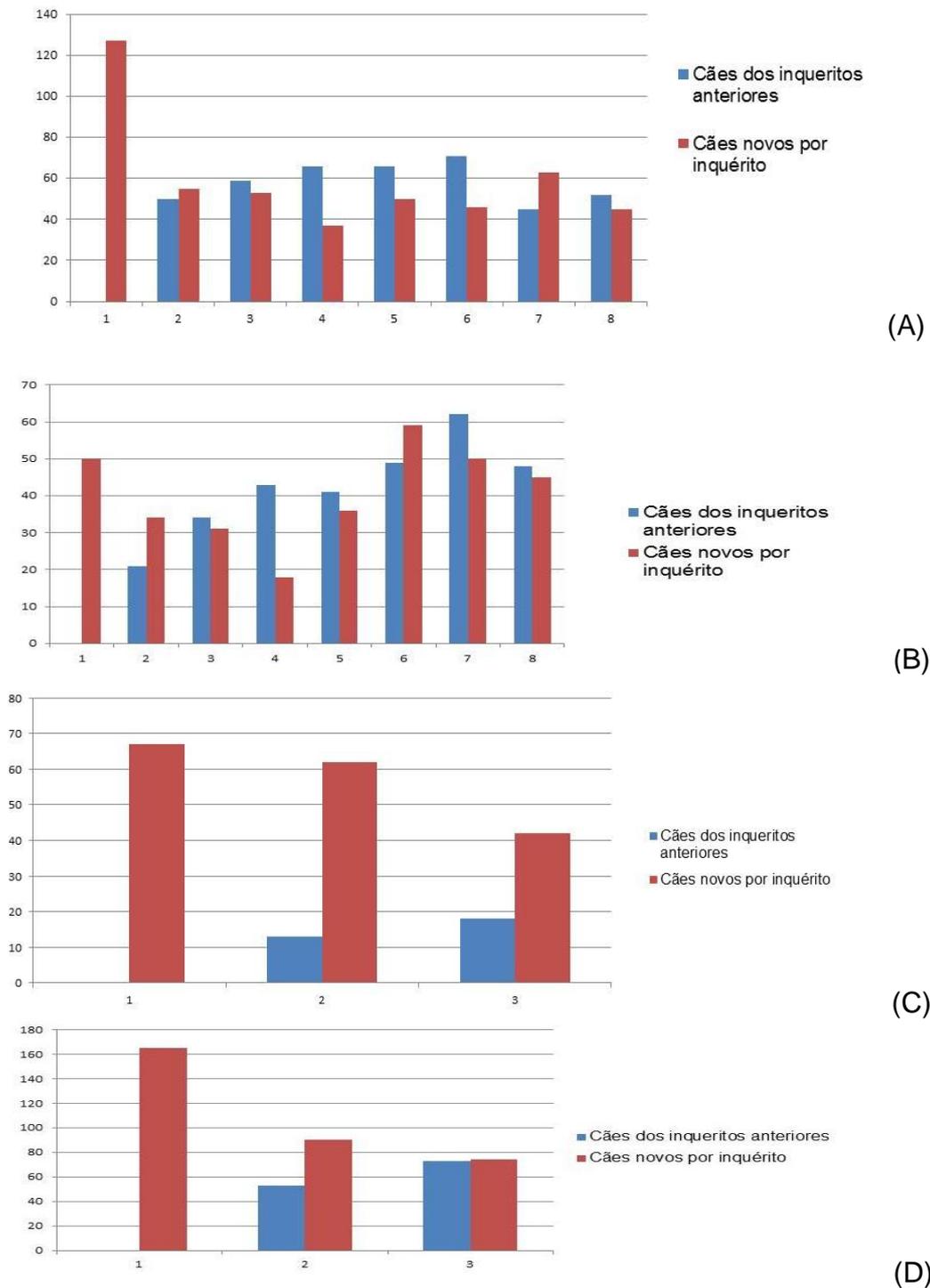


Figura 11. Quantitativo de animais presentes nos diferentes inquéritos soroepidemiológicos para diagnóstico da LV canina, distribuídos segundo a categorização de “cães presentes em inquéritos anteriores” e “cães novos no inquérito” (A – Santa Terezinha, B – Parque Manchester, C- Jardim Helena e D – Jardim Vanuire)

Tabela 14 - Avaliação da prevalência de leishmaniose visceral canina nos inquéritos soropidemiológicos semestrais realizados nos bairros Santa Terezinha (ST) e Parque Manchester (PM) e anuais nos bairros Jardim Helena (JH) e Jardim Vanuire(JV) em Bauru, São Paulo.

| Inquéritos semestrais (ST+PM) x anuais (JH+JV) | Positivo | Negativo | Qui quadrado | | Odds ratio | IC 95% | p |
|---|----------|----------|--------------|---------|------------|------------------|--------|
| | | | Valor | p-value | | | |
| 1o. ST + PM x 1o. JH + JV (a) | 21 | 156 | 0,1047 | 0,74631 | 0,9064 | 0,4997 - 1,6442 | 0,7464 |
| | 30 | 202 | | | | | |
| 3o. ST + PM x 2o. JH + JV (b) | 10 | 167 | 0,6679 | 0,41378 | 0,715 | 0,3189 - 1,6033 | 0,4156 |
| | 17 | 203 | | | | | |
| 2o. ST + PM x 2o. JH + JV (c) | 10 | 150 | 0,3063 | 0,57998 | 0,7961 | 0,3545 - 1,7879 | 0,5806 |
| | 17 | 203 | | | | | |
| 5o. ST + PM x 3o. JH + JV (d) | 9 | 184 | 2,6222 | 0,10538 | 0,5109 | 0,2238 - 1,1664 | 0,1108 |
| | 18 | 188 | | | | | |
| 3o. ST + PM x 3o. JH + JV (e) | 10 | 167 | 1,3398 | 0,24707 | 0,6254 | 0,2808 - 1,3928 | 0,2506 |
| | 18 | 188 | | | | | |
| 4o. ST + PM x 1o. JH + JV (f) | 3 | 159 | 15,2579 | 0,00009 | 7,813 | 2,3592 - 26,2618 | 0,0008 |
| | 30 | 202 | | | | | |
| 6o. ST + PM x 2o. JH + JV (g) | 20 | 205 | 0,1969 | 0,65724 | 0,792 | 0,4037 - 1,5540 | 0,4978 |
| | 17 | 203 | | | | | |
| 8o. ST + PM X 3o. JH + JV (h) | 11 | 177 | 1,2013 | 0,27306 | 0,6491 | 0,2982 - 1,4127 | 0,2761 |
| | 18 | 188 | | | | | |
| \sum 1o. 2o. 3o. ST + PM x \sum 1o. 2o. 3o. JH + JV 1 (i) | 41 | 473 | 1,2687 | 0,26001 | 0,7908 | 0,5253 - 1,1906 | 0,2608 |
| | 65 | 593 | | | | | |
| \sum 4o. 6o. 8o. ST + PM x \sum 1o. 2o. 3o. JH + JV (j) | 34 | 541 | 6,534 | 0,01058 | 1,7441 | 1,1336 - 2,6836 | 0,0114 |
| | 65 | 593 | | | | | |
| \sum 1o. 3o. 5o. ST + PM x \sum 1o. 2o. 3o. JH + JV (k) | 40 | 507 | 2,421 | 0,11588 | 0,7198 | 0,4770 - 1,0860 | 0,1172 |
| | 65 | 593 | | | | | |

IC 95% - Intervalo de Confiança 95%

- a. 1º. Inquérito para as duas situações – inquéritos semestral ou anual;
- b. Inquéritos realizados com intervalo de 12 meses após o primeiro inquérito;
- c. 2º. Inquérito para as duas situações – inquéritos semestral ou anual;
- d. Inquéritos realizados após 12 meses após os inquéritos em (b.);
- e. 3º. Inquérito para as duas situações – inquéritos semestral ou anual;
- f., g., h. Inquéritos realizados simultaneamente - semestral ou anual e intervalos de 12 meses;
- i. \sum Inquéritos 1º., 2º. e 3º. – semestral e anual;
- j. \sum Inquéritos realizados simultaneamente - semestral ou anual e intervalos de 12 meses;
- k. \sum Inquéritos realizados simultaneamente - semestral ou anual e intervalos de 12 meses;

Na Figura 12, são apresentados os gráficos referentes à participação dos animais nos diferentes inquéritos soropidemiológicos realizados em cada um dos bairros do município de Bauru, categorizados como “cães positivos novos” e os valores da soroconversão para diagnóstico positivo para LVC observados a cada novo inquérito.

Quando considerados os conjuntos de cães com resultado final positivo para LV canina nos bairros Santa Terezinha e Parque Manchester, em que se aplicou a estratégia de inquéritos semestrais e aqueles dos bairros Jardim Helena e Jardim Vanuire, em que foram realizados inquéritos anuais, foi observado valor de qui quadrado de 0,0127, não significativo para $p \leq 0.05$.

Na Tabela 16 é apresentado o número de imóveis com presença de cães soropositivos (imóveis positivos) diagnosticados ao final do total de inquéritos soropidemiológicos realizados para os quatro bairros.

Na Tabela 17 é apresentado o número de imóveis com presença de cães soropositivos (imóveis positivos) diagnosticados ao final do período de vinte e quatro meses de realização dos inquéritos soropidemiológicos nos quatro bairros.

Na Tabela 18 é apresentado o quantitativo de cães com diagnóstico positivo para leishmaniose visceral canina, segundo número de exames realizados, único exame ou dois ou mais exames (soroconvesão).

Na Tabela 19 é apresentado quantitativo de imóveis com registro de ingresso de novos cães após a realização do primeiro inquérito soropidemiológico para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina

Quando considerados os conjuntos de imóveis com cães positivos nos bairros Santa Terezinha e Parque Manchester, total de oito inquéritos, frente aqueles dos bairros Jardim Helena e Jardim Vanuire, total de três inquéritos, foi observado valor de qui quadrado de 6,4605, significativo para $p \leq 0.05$.

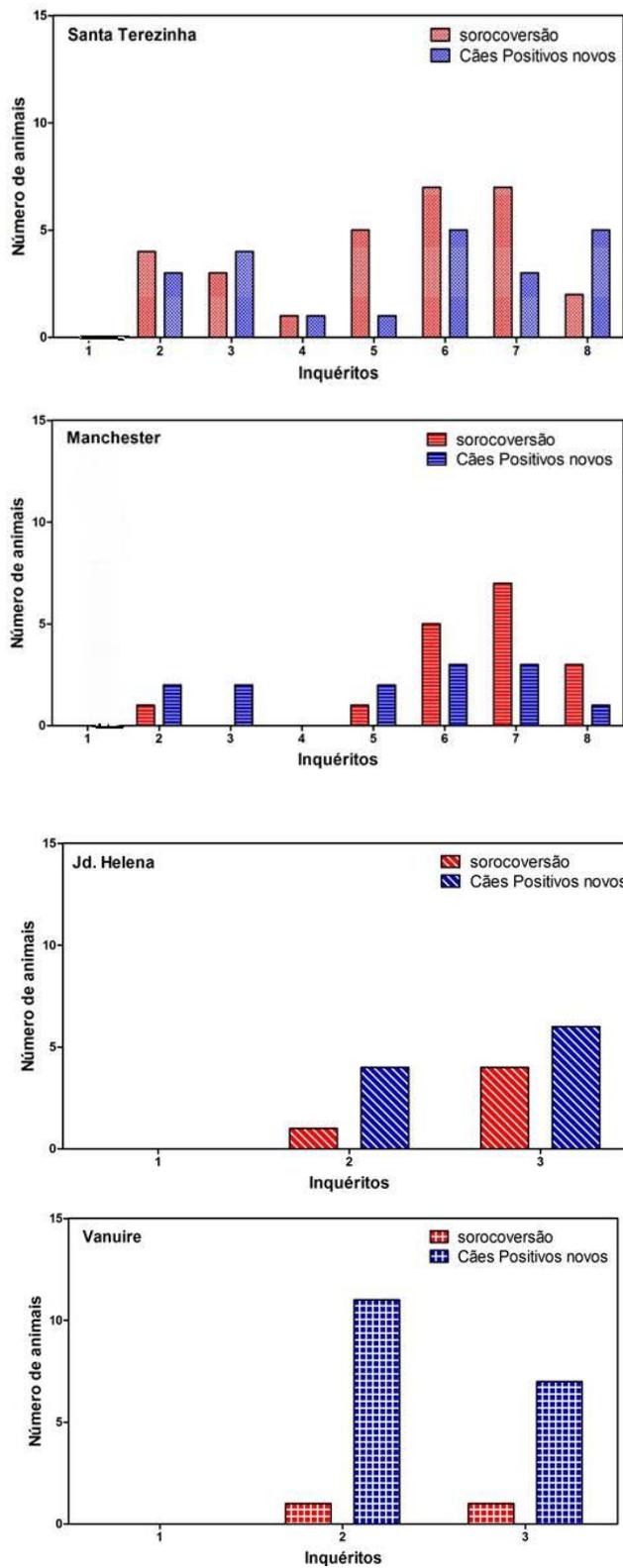


Figura 12. Registro da participação cães positivos novos e dos valores de sorocovisão para LV canina nos diferentes inquéritos soroepidemiológicos realizados.

Tabela 15 - Resultados do diagnóstico laboratorial para leishmaniose visceral.

| Bairros | Cães - Quantitativo | | | |
|-------------------|---------------------|-------------|---------------|-------------|
| | Examinados | | Positivos (p) | |
| | No. | % | No. | % |
| Santa Terezinha | 478 | 93,4 | 60 | 11,8 |
| Parque Manchester | 324 | 82 | 46 | 11,6 |
| Jardim Vanuire | 329 | 86,8 | 44 | 11,6 |
| Jardim Helena | 171 | 82,6 | 21 | 10,1 |
| Total | 1302 | 87,2 | 171 | 11,4 |

Tabela 16 - Quantitativo de imóveis com presença de cães soropositivos (imóveis positivos) diagnosticados ao final do total de inquéritos soropidemiológicos.

| Bairros | Imóveis | | | | Total |
|-------------------|-----------|------|-----------|------|-------|
| | Positivos | | Negativos | | |
| | nº | % | nº | % | |
| Santa Terezinha | 42 | 26,3 | 118 | 73,7 | 160 |
| Parque Manchester | 35 | 31,5 | 76 | 68,5 | 111 |
| Jardim Helena | 18 | 15,9 | 95 | 84,1 | 113 |
| Jardim Vanuire | 39 | 21,4 | 143 | 78,6 | 182 |

Tabela 17 - Quantitativo de imóveis com presença de cães soropositivos (imóveis positivos) diagnosticados ao final do período de vinte e quatro meses de realização dos inquéritos soroepidemiológicos.

| Imóveis | | | | | |
|-------------------|-----------|------|-----------|------|-------|
| Bairros | Positivos | | Negativos | | Total |
| | nº | % | nº | % | |
| Santa Terezinha | 24 | 15,0 | 136 | 85,0 | 160 |
| Parque Manchester | 20 | 18,0 | 91 | 82,0 | 111 |
| Jardim Helena | 18 | 15,9 | 95 | 84,1 | 113 |
| Jardim Vanuire | 39 | 21,4 | 143 | 78,6 | 182 |

Quando considerados os conjuntos de imóveis com cães positivos nos bairros Santa Terezinha e Parque Manchester, cinco inquéritos, com aqueles dos bairros Jardim Helena e Jardim Vanuire, total de três inquéritos, ao final de vinte e quatro meses foi observado valor de qui quadrado de 0,9175, não significante para $p \leq 0.05$

Tabela 18 - Quantitativo de cães com diagnóstico positivo para leishmaniose visceral canina, distribuídos segundo número de exames realizados, único exame ou dois ou mais exames (soroconversão).

| Animais soropositivos para leishmaniose visceral | | | | | |
|--|---------------|------|-----------------|------|-------|
| Bairros | Soroconversão | | Único inquérito | | Total |
| | nº | % | nº | % | |
| Santa Terezinha | 29 | 48,3 | 31 | 51,7 | 60 |
| Parque Manchester | 18 | 39,1 | 28 | 60,9 | 46 |
| Jardim Helena | 4 | 19,0 | 17 | 81,0 | 21 |
| Jardim Vanuire | 1 | 2,3 | 43 | 97,7 | 44 |

(*) Soroconversão = animais examinados em dois ou mais inquéritos.

Quando considerados os conjuntos de imóveis com cães positivos nos bairros Santa Terezinha e Parque Manchester, total de oito inquéritos, frente aqueles dos bairros Jardim Helena e Jardim Vanuire, total de três inquéritos, foi observado valor de qui quadrado de 25,5711, significante para $p \leq 0.05$.

Tabela 19 - Quantitativo de imóveis com registro de ingresso de novos cães após a realização do primeiro inquérito soroepidemiológico para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina.

| Quantitativo de imóveis com ingresso de novos cães* | | | | | |
|---|----------------|------|----------------|------|-------|
| Bairros | Sim | | Não | | Total |
| | n ^o | % | n ^o | % | |
| Santa Terezinha | 76 | 47,5 | 84 | 52,5 | 160 |
| Parque Manchester | 58 | 52,3 | 53 | 47,7 | 111 |
| Jardim Helena | 17 | 15,0 | 96 | 85,0 | 113 |
| Jardim Vanuire | 48 | 26,4 | 134 | 73,6 | 182 |

Quando considerados os conjuntos de imóveis com ingresso de novos cães após a realização do primeiro inquérito soroepidemiológico realizado nos bairros Santa Terezinha e Parque Manchester, até o oitavo inquérito, frente aqueles dos bairros Jardim Helena e Jardim Vanuire, até de terceiro inquérito, foi observado valor de qui quadrado de 46,5574, significante para $p \leq 0.05$.

Tabela 20 - Quantitativo de imóveis com registro de "reposição" canina após diagnóstico, recolhimento e eutanásia de cães soropositivos para leishmaniose visceral.

| Quantitativo de imóveis Reposição canina | | | | | |
|---|-----|------|-----|------|-------|
| Bairros | Sim | | Não | | Total |
| | nº | % | nº | % | |
| Santa Terezinha | 18 | 42,9 | 24 | 57,1 | 42 |
| Parque Manchester | 18 | 51,4 | 17 | 48,6 | 35 |
| Jardim Helena | 4 | 23,5 | 13 | 76,5 | 17 |
| Jardim Vanuire | 1 | 2,3 | 38 | 97,7 | 39 |

Quando considerados os conjuntos de imóveis com "reposição" canina após diagnóstico, recolhimento e eutanásia de cão soropositivo nos bairros Santa Terezinha e Parque Manchester, até o oitavo inquérito, frente aqueles dos bairros Jardim Helena e Jardim Vanuire, até de terceiro inquérito, foi observado valor de qui quadrado de 19,2389, significante para $p \leq 0.05$.

Tabela 21 - Somatório dos quantitativos de cães dos bairros Santa Terezinha e Parque Manchester, examinados em dois ou mais inquéritos e distribuídos segundo tempo de exposição (número de inquéritos soroepidemiológicos). Excluídos os animais que participaram de um único inquérito.

| Meses de Exposição (meses) | Cães examinados | | | Incidência (/100cães) |
|-------------------------------|-----------------|----------|-------|--------------------------|
| | Positivo | Negativo | Total | |
| 6 | 19 | 86 | 105 | 18,1 |
| 12 | 10 | 50 | 60 | 16,7 |
| 18 | 2 | 39 | 41 | 4,9 |
| 24 | 6 | 27 | 33 | 18,2 |
| 30 | 4 | 30 | 34 | 11,8 |
| 36 | 2 | 14 | 16 | 12,5 |
| 42 | 1 | 20 | 21 | 4,8 |
| Total | 44 | 266 | 310 | 14,2 |

Tabela 22- Distribuição dos resultados obtidos na análise de risco de LVC dos bairros Santa Terezinha e Parque Manchester, segundo o tempo de exposição (meses).

| Tempo de exposição (meses) - Análise de risco | Positivo | Negativo | Odds ratio | IC 95% | p-value |
|--|----------|----------|------------|--------------------|---------|
| 6 x 12 | 19 | 86 | 0,9053 | 0,3903- 2,0997 | 0,8166 |
| | 10 | 50 | | | |
| 6 x 18 | 19 | 86 | 0,2321 | 0,0515 - 1,0459 | 0,0572 |
| | 2 | 39 | | | |
| 12 x 18 | 10 | 50 | 0,256 | 0,0531 - 1,2385 | 0,0903 |
| | 2 | 39 | | | |
| $(\sum 6 + 12) \times 18$ | 29 | 136 | 0,245 | 0,0549 - 1,0528 | 0,0585 |
| | 2 | 39 | | | |
| $(\sum 6 + 12 + 18 + 24) \times (\sum 30 + 36 + 42)$ | 37 | 239 | 0,6368 | 0,2721 - 1,4903 | 0,2982 |
| | 7 | 71 | | | |
| $(\sum 24 + 30 + 36) \times 42$ | 12 | 71 | 0,2958 | 0,0362 - 2,4146 | 0,2555 |
| | 1 | 20 | | | |

IC 95% - Intervalo de Confiança 95%

Tabela 23 - Distribuição dos quantitativos de cães positivos e negativos para a LVC, segundo número de animais por domicílio nos bairros Santa Terezinha e Parque Manchester, excluídos os aqueles que estiveram presentes num único inquérito. Excluídos os animais que participaram de um único inquérito.

| Número de cães por domicílio | Santa Terezinha | | Parque Manchester | | Total | |
|------------------------------|-----------------|----------|-------------------|----------|----------|----------|
| | Positivo | Negativo | Positivo | Negativo | Positivo | Negativo |
| 01 | 3 | 20 | 3 | 8 | 6 | 28 |
| 02 | 4 | 21 | 6 | 14 | 10 | 35 |
| 03 | 8 | 11 | 9 | 9 | 17 | 20 |
| 04 | 6 | 9 | 4 | 8 | 10 | 17 |
| 05 | 5 | 6 | 2 | 1 | 7 | 7 |
| 06 | 3 | 5 | 2 | 1 | 5 | 6 |
| 07 | 1 | 1 | 2 | 1 | 3 | 2 |
| 08 | 3 | 0 | 2 | 1 | 5 | 1 |
| 09 | 2 | 1 | 0 | 0 | 2 | 1 |
| 10 | 1 | 0 | 1 | 1 | 2 | 1 |
| 11 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 12 | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 |
| 13 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| Total | 38 | 74 | 33 | 44 | 71 | 118 |

Tabela 24 - Avaliação de risco da leishmaniose visceral canina segundo número de cães por domicílio nos bairros de Santa Terezinha e Parque Manchester em Bauru, São Paulo.

| Número de cães por domicílio | Positivo | Negativo | Qui quadrado | | Odds ratio | IC 95% | p |
|--------------------------------|----------|----------|--------------|----------|------------|------------------|--------|
| | | | Valor | p-value | | | |
| 01 x 02 (a) | 6 | 28 | 0,251 | 0,62373 | 0,7500 | 0,2429 – 2,3161 | 0,6170 |
| | 10 | 35 | | | | | |
| 01 x 03 (b) | 6 | 28 | 6,479 | 0,010916 | 3,9667 | 1,3291 – 11,8381 | 0,0135 |
| | 17 | 20 | | | | | |
| 02 x 03 (c) | 10 | 35 | 5,1745 | 0,022921 | 2,9750 | 1,1448 – 7,7308 | 0,0252 |
| | 17 | 20 | | | | | |
| ∑ 01 + 02 x 03 (d) | 16 | 63 | 8,1718 | 0,004255 | 3,3469 | 1,4333 – 7,8150 | 0,0052 |
| | 17 | 20 | | | | | |
| ∑ 01 + 02 x ∑ 03 + (04-13) (e) | 16 | 63 | 17,3469 | 0,000031 | 3,9375 | 2,0272 – 7,6481 | 0,0001 |
| | 55 | 55 | | | | | |

IC 95% - Intervalo de Confiança 95%

- Número de domicílios com 1 e com 2 cães;
- Número de domicílios com 1 e com 3 cães;
- Número de domicílios com 2 e com 3 cães;
- Somatório do número de domicílios com 1 + 2 e com 3 cães;
- Somatório do número de domicílios com 1 + 2 e com ∑ Número de domicílios com 3 + (4 até 13) cães.

O cálculo do risco relativo (RR) para número de cães por domicílio indicou: b. $RR = (17/37)/(6/34) = 0,46/0,18 = 2,6$ vezes (LVcanina quando mais de 3 cães por domicílio);

c. $RR = (17/37)/(10/45) = 0,46/0,22 = 2,1$ vezes (LVcanina quando mais de 3 cães por domicílio);

d. $RR = (17/37)/(16/79) = 0,46/0,20 = 2,3$ vezes (LVcanina quando mais de 3 cães por domicílio);

e. $RR = (55/110)/(16/79) = 0,50/0,20 = 2,5$ vezes (LVcanina quando mais de 3 cães por domicílio).

Nas casas em que os cães tiveram soroconversão (que participaram mais de um inquérito) nos bairros Santa Terezinha e Manchester, foram

analisadas as características ambientais através dos dados registradas nas planilhas – DIAGAMBI. As características são: presença de vegetação, matéria orgânica (folha e frutos, fezes de animais, esterco para adubo) e presença ou ausência de cães e de outros animais. A partir desses dados, foram avaliados: os fatores de risco para perpetuação do foco de transmissão e aqueles favoráveis à colonização dos vetores que podem ser observados nas Tabelas 25, 26, 27 e 28.

Tabela 25 - Características ambientais das casas com cães que participaram de mais de um inquérito com soroconversão no bairro Santa Terezinha.

| Casas com cães positivos que tiveram soroconversão | | | |
|--|---|---|--------|
| Área do peridomicílio (m ²) | Peridomicílio maior / igual a 200m ² | Peridomicílio menor / igual que 200m ² | S/Inf |
| Total de casas | | | |
| 24 | 5 (20,9%) | 18 (75 %) | 1 |
| Vegetação com sombra | | | |
| 16 (66,6%) | 5 (31,3 %) | 11 (68,7 %) | |
| Sem sombra | | | |
| 4 (16,6%) | 0 (0%) | 4 (100%) | 0 (0%) |
| Ausente | | | |
| 3 (12,5%) | 0 (0%) | 3 (100%) | |
| S/Inf | | | |
| 1 (4,2%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 1 |

Tabela 26 - Características ambientais das casas com cães que participaram de mais de um inquérito com soroconversão no bairro Manchester.

| Casas com cães positivos que tiveram soroconversão | | | |
|--|---|---|----------|
| Área do peridomicílio (m ²) | Peridomicílio maior / igual a 200m ² | Peridomicílio menor / igual que 200m ² | S/Inf |
| Total de casas | | | |
| 13 | 2(15,4%) | 10 (76,9%) | 1 (7,7%) |
| Vegetação com sombra | | | |
| 9 (69,2 %) | 2 (22,2%) | 7 (77,7%) | |
| Sem sombra | | | |
| 1 (7,7 %) | 0 (0%) | 1 (100%) | 0 (0%) |
| Ausente | | | |
| 2 (15,4%) | 0 (0%) | 2 (100%) | |
| S/Inf | | | |
| 1 (7,7 %) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) |

Tabela 27 - Características ambientais de acordo com a presença de matéria orgânica das casas com cães que participaram de mais de um inquérito com soroconversão no bairro Santa Terezinha

| Total | Peridomicílio maior / igual a 200m ² | Peridomicílio menor / igual que 200m ² | Vegetação com sombra | Sem sombra | Vegetação ausente |
|--|---|---|----------------------|------------|-------------------|
| Folhas e Frutos | | | | | |
| 12 (50%) | 4 (33,3 %) | 8 (66,6%) | 12 (100%) | 0% | 0 (0%) |
| sem Folhas e Frutos | | | | | |
| 11 (45,8%) | 1 (10%) | 10 (90%) | 4 (36,7%) | 4 (36,7%) | 3 (27,8 %) |
| Fezes de animais | | | | | |
| 2 (8,3%) | 0 (0%) | 2 (100%) | 2 (100%) | 0 (0%) | 0 (0%) |
| Sem fezes de animais | | | | | |
| 21 (87,5 %) | 5 (23,8%) | 16 (76,2%) | 14 (66,6%) | 4 (19,1%) | 3(14,3 %) |
| Esterco para adubo | | | | | |
| 2 (8,3%) | 0 (0%) | 2 (100%) | 2 (100%) | 0 (0%) | 0 (0%) |
| Sem esterco para adubo | | | | | |
| 21 (87,5%) | 5 (23,9%) | 16 (76,2%) | 14 (66,6 %) | 4 (19,1 %) | 3 (14,3 %) |
| S/Inf | | | | | |
| 1 (4,7%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) |
| Presença de outros animais (coelho, galinha, gato, cavalo, porco, outros) | | | | | |
| Total de Casas | Ausente | Presente | S/Inf | | |
| 24 | 15 (62,5 %) | 8 (33,3 %) | 1 (4,2 %) | | |

Tabela 28 - Características ambientais de acordo com a presença de matéria orgânica das casas com cães que participaram de mais de um inquérito com soroconversão no bairro Manchester.

| Total | Peridomicílio maior / igual a 200m ² | Peridomicílio menor / igual que 200m ² | Vegetação com sombra | Sem sombra | Vegetação ausente |
|---|---|---|----------------------|------------|-------------------|
| Folhas e Frutos | | | | | |
| 4 (30,8%) | 2 (50%) | 2 (50%) | 0 (0%) | 4 (100%) | 0 (0%) |
| sem Folhas e Frutos | | | | | |
| 8 (61,5 %) | 0 (0%) | 8 (100%) | 5 (62,5%) | 1 (12,5%) | 2 (25%) |
| Fezes de animais | | | | | |
| 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) |
| Sem fezes de animais | | | | | |
| 11 (84,6 %) | 1 (9,1%) | 10 (90,9%) | 8 (72,7 %) | 1 (9,1%) | 2 (18,2%) |
| Esterco para adubo | | | | | |
| 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) |
| Sem esterco para adubo | | | | | |
| 12 (92,3 %) | 2 (15,3 %) | 10 (83,3%) | 9 (75%) | 1 (8,3%) | 2 (16,7%) |
| S/Inf | | | | | |
| 1 (7,7%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) |
| Presença de outros animais (coelho, galinha, gato, cavalo, porco, outros) | | | | | |
| Total de Casas | Ausente | Presente | S/Inf | | |
| 13 | 6 (46,2 %) | 6 (46,2 %) | 1 (7,7 %) | | |

De acordo com o Manual de Controle da LV a presença nas casas de vegetação com sombreamento em quintais ou jardins, presença de matéria orgânica pode fornecer condições favoráveis para o estabelecimento de criadouros do vetor. Na análise dos dados do Diagamb nestas casas que os animais tiveram soroconversão, no qual o animal ficou exposto a uma determinada situação de risco, foi observado que no bairro Santa Terezinha: peridomicílio menor / igual que 200m² em 75%; vegetação com sombra em 66,6%; folhas e frutos em 50%; fezes de animais e esterco para adubo em 8,3 %. No bairro Manchester observou: peridomicílio menor / igual que 200m² em 76,9%; vegetação com sombra em 69,2 %; folhas e frutos em 30,8%; e no dia que foi feito a análise não foi encontrado fezes de animais e esterco para adubo. Portanto grande parte destas casas podiam ter

condições favoráveis para o estabelecimento de criadouros do vetor, apresentando áreas de vegetação com sombra e matéria orgânica.

5. Discussão

Na epidemiologia da leishmaniose visceral (LV) é possível destacar alguns aspectos que guardam uma estreita relação com a distribuição geográfica dessa parasitose. Assim, a LV se apresenta como uma antroponose verdadeira em limitadas regiões da Índia, Bangladesh, Quênia, Sudão, Uganda e Etiópia. Nessas localidades a transmissão do parasito se dá de forma exclusiva entre hospedeiros humanos. No restante do mundo, Europa, Ásia, Oriente, América Central e do Sul, o ciclo de circulação dos agentes etiológicos da LV é do tipo zoonótico, primariamente entre animais e secundariamente incluindo o ser humano como um de seus hospedeiros vertebrados (COSTA, 2011).

Embora diferentes esses agentes etiológicos, tanto na LV antroponótica quanto na zoonótica, de maneira geral são diferentes espécies de *Leishmania* que, porém guardam muitas similaridades, confirmadas por técnicas de caracterização biológica, bioquímica e, mesmo por diferentes técnicas moleculares.

A LV está incluída entre as chamadas doenças emergentes em diferentes regiões no mundo. Na América Latina, o Brasil responde pela produção de 90% dos casos que são notificados a cada novo ano (WERNECK et al, 2008).

Ao longo de décadas a LV estava restrita a áreas rurais do interior do nordeste, principalmente do Ceará e Bahia e, no extremo oeste de Mato Grosso do Sul, em Corumbá e Ladário. Não por acaso atribuiu-se a denominação de calazar rural, a essa destacada endemia, de áreas carentes, no passado, da atenção das políticas públicas especialmente aquelas de cunhos sanitário, social e econômico.

Com esse padrão de transmissão restrita ao ambiente rural, na década de 1940 o Ministério da Saúde estabeleceu as bases de um Programa Nacional de Controle da LV (PVCLV), que permanece em essência até hoje, inclusive no Estado de São Paulo (Ministério da Saude, 2007, Secretaria de Estado a saúde de São Paulo, 2006).

Desde então, o PVCLV direcionou suas ações para: 1. O diagnóstico e tratamento precoce dos casos humanos; 2. O controle vetorial, com a aplicação de inseticidas de ação residual; 3. O controle dos reservatórios caninos com a realização de inquéritos sorológicos e apreensão e eutanásia dos animais sororreagentes. Além de ações de manejo ambiental, visando eliminar as condições favoráveis à colonização dos vetores (Ministério da Saúde, 2016).

A expansão da LV está associada à urbanização da doença e do vetor, às mudanças socioambientais e às dificuldades de controle em grandes centros urbanos, onde problemas de desnutrição, moradia e saneamento básico estão presentes. A migração de populações humanas e caninas de áreas endêmicas contribui para sua expansão, favorecendo a introdução de parasito *L. infantum chagasi* em novos ambientes. Entre os fatores antrópicos destacam-se grandes obras de construção civil, rodovias, migrações e outras consideradas no quadro epidemiológico da LV.

Por razões de várias ordens, o controle do reservatório canino sempre mereceu maior atenção, sendo o componente mais efetivamente trabalhado. Em São Paulo, mesmo na vigência dos esforços para a operacionalização das ações do PVCLV, a endemia apresenta-se em processo de contínua expansão e persistência dos focos de transmissão em áreas urbanas de diferentes regiões e dezenas de municípios.

No presente estudo de coorte de cães de áreas endêmicas para LV, foi possível testar e avaliar o impacto ou efetividade de duas ações. A primeira relacionada ao intervalo de tempo para a realização dos inquéritos soropidemiológicos para o diagnóstico da LV canina, a cada seis ou a cada doze meses. A segunda foi a definição de um intervalo máximo de 20 dias entre a coleta da amostra de sangue - realização do diagnóstico laboratorial - emissão do laudo com os resultados - recolhimento e eutanásia dos animais soropositivos.

O total de domicílios com cães foi similar quando consideradas as características dos imóveis dos quatro bairros, com ou sem cães e terrenos baldios e, também nas duas condições de realização dos inquéritos caninos,

semestral ou anual. Havia similaridades ainda, para algumas das características ambientais, sendo os bairros Santa Terezinha e Jardim Vanuire aqueles mais urbanizados, com 53% dos imóveis de cada um deles com presença de cães. No Parque Manchester e no Jardim Helena, a urbanização era menor e, contavam pouco mais de 33% dos imóveis com registro de presença canina em cada um deles.

Diversos estudos concentram atenção nas consequências das mudanças ambientais, da migração humana e da ocupação de terra nas taxas de incidência da LV. Pouco se sabe sobre os efeitos do baixo padrão de vida, consequência do processo desordenado de urbanização, na dinâmica e expansão da doença (Costa *et al*, 2005, Oliveira *et al*, 2006).

Há estudos que avaliam fatores de risco microambientais para leishmaniose em áreas urbanas e suburbanas, dentro esses fatores são considerados as características do bairro e da casa, o nível de urbanização, a qualidade da habitação e presença de animais livres. Considerando que esses fatores podem estar associados com a incidência da LV, o conhecimento das características dos bairros e domicílios pode auxiliar na compreensão da epidemiologia, explicar taxas de prevalência e incidência; outros determinantes para a manutenção dos focos de transmissão e subsidiar o planejamento e a decisão sobre as medidas que seriam mais efetivas no controle da doença (Costa *et al*, 2005, Oliveira *et al*, 2006).

Do ponto de vista teórico, bairros de ocupação recente, tem o potencial de condições favoráveis à colonização dos flebotomíneos e de estabelecimento de focos de transmissão, seja pelas precárias condições de moradia, com sistema de esgoto inadequado e/ ou coleta irregular de lixo, acúmulo de matéria orgânica, animais, etc. (Costa *et al*, 2005, Oliveira *et al*, 2006).

Nos quatro bairros, entre 73,7 e 85,9% das casas tiveram cães examinados em um ou mais dos inquéritos soroepidemiológicos. Do total de cães cadastrados habitando os imóveis nos quatro bairros, entre 82,0 e 93,4% dos animais foram incluídos no estudo. As casas com cães não examinados corresponderam 14,4 % no bairro Santa Terezinha, 25,5% no

Parque Manchester, 16,3 % no Jardim Helena e 26,3 % no Jardim Vanuire, confirmando que a maior parte das casas foi analisada.

As principais razões para a não realização do diagnóstico da LVC e inclusão nos estudo de parcelas das populações caninas desses bairros se deveu entre outros: casas fechadas durante as realizações dos inquéritos; recusa pelo proprietário do animal ou pela ausência de maiores de 18 anos na casa quando da coleta de sangue.

Dessa forma, neste estudo, do ponto de vista estatístico, considerou-se possível à análise comparativa entre as diferentes condições estudadas.

Não foi observada associação estatística significativa entre as variáveis explicativas no presente modelo de análise: sexo, grupos etários, tamanho do pelo, porte do animal e diagnósticos nos diferentes inquéritos soroepidemiológicos.

Na literatura, a análise das variáveis: raça, sexo e idade, como fatores de risco, revela resultados discordantes (Alencar e Cunha, 1963, Sideris *et al*, 1996). Em Portugal, Abranches *et al*, 1991, observaram leishmaniose visceral somente em cães adultos apesar da infecção ser detectável em cães de todas as idades. Nenhum padrão específico de distribuição sexual foi encontrado para LVZ em vários países endêmicos (Abranches *et al*, 1991, Alencar e Cunha, 1963, Pozio *et al*, 1981, Sideris *et al*,1996). No entanto, na França, uma maior prevalência de LVZ foi encontrada em cães machos (Lanotte *et al*, 1975).

Em relação à raça, pastor alemão, boxer, e doberman foram as que apresentaram maior taxa de prevalência na França, Portugal e Grécia (Abranches *et al*, 1991, Ranque *et al*, 1975, Sideris *et al*,1996). A raça collie foi a menos infectada na Grécia (Sideris *et al*,1996). Esses resultados poderiam estar relacionados ao comprimento do pelo do animal, atribuindo-se aos animais com pelos curtos maior risco para picadas flebotomíneos.

No entanto, no Brasil, as raças mais afetadas foram cocker spaniel com pelos longos (26,9%) e boxer de pelos curtos (24,6%). Na Itália não foi encontrado nenhuma prevalência específica relacionada à raça (Palatnik-de-Sousa *et al*, 2001).

No presente estudo, constituído da análise de coortes abertas de cães, a permanente saída e entrada e/ou reposição canina foi um dos registos surpreendentes pela intensidade com que se processou.

Nos bairros Santa Terezinha e Parque Manchester, em que foi adotado o ritmo semestral para realização dos inquéritos, a cada seis meses, respectivamente entre 35,9 e 58,7% e, entre 30,5 e 61,8% eram novos animais.

Nos bairros Jardim Helena e Jardim Vanuire, novos cães, a cada doze meses foram introduzidos entre 71,2 e 82,7% e, entre 50,3 e 63,4%, respectivamente.

A reposição canina também foi observada no estudo de Nunes (2008) em Araçatuba, que encontrou uma taxa de reposição de 39%. Para mais de 40% dos proprietários os cães tinham a função de guarda, o que possivelmente explicaria a substituição constante como uma necessidade. Ainda nesse estudo, 37% dos cães substituídos também foram submetidos a eutanásia, relativamente em um curto espaço de tempo, algo como 7 meses, a maioria em uma idade jovem (média de 18 meses).

Kitala *et al.* (2001) observaram que 50% dos cães em um população canina rural do Quênia foram retirados para eutanásia quando tinham menos de 1 ano de idade e 100% dos proprietários procuraram outro cachorro no ano seguinte para substituir o que foi retirado para eutanásia. Moreira *et al.* (2004) também observaram uma alta taxa de substituição após a eliminação de cães LVC positivos. Andrade *et al.* (2007) entrevistou os donos que tiveram seus cães eutanasiados no ano anterior em Araçatuba e observou uma proporção ainda maior, 44,5%, de substituição.

O impacto da reposição canina pode reduzir a eficiência dos programas de retirada e eutanásia dos cães, pois a introdução de novos suscetíveis pode contribuir para a manutenção do foco de transmissão (Courtenay *et al.*, 2002, Dye, 1996; Kitala *et al.*, 2001; Moreira *et al.*, 2004; Andrade *et al.*, 2007).

Pouco se conhece sobre a dinâmica populacional de cães em áreas endêmicas para LVA e sobre a importância do recolhimento e eutanásia de

cães infectados no comportamento dos proprietários em relação à reposição desses animais (Andrade, 2006)..

Em São Paulo, da experiência do grupo de pesquisadores do Centro de Parasitologia e Micologia em trabalhos de campo (informação pessoal), é frequente a observação de técnicos de serviços municipais de zoonoses sobre o ingresso de mais de um cão para cada animal recolhido com diagnóstico de LVC.

Neste estudo, 68,3% (114/167) cães com diagnóstico positivo para LV participaram de um único inquérito. Sendo 50,8% (30/59) no Santa Terezinha, 60,4% (26/43) no Parque Manchester, 76,2% no Jardim Helena e, 95,5% (42/44) no Jardim Vanuíre. Isto significa que ao ingressarem nas coortes esses animais revelaram estar infectados num intervalo igual ou menor do que seis meses, sendo por isso recolhidos e eutanasiados. Duas possíveis interpretações sobre esses registros poderiam significar: a. elevada intensidade de transmissão e, por consequência rápida detecção de casos novos; b. esses animais podem ter ingressado infectados nessas coortes. Observação semelhante foi assinalada por Grimaldi *et al* 2012, sobre cães recém-infectados deslocados para uma nova área geográfica trazendo a infecção com eles.

Em relação à soroconversão, para os bairros Santa Terezinha e Parque Manchester foi observado que essa taxa correspondeu a 45,1% (46/102) de todos os animais infectados. Para o Jardim Helena e Jardim Vanuíre a soroconversão foi bem menor, 10,8% (7/65), possivelmente em decorrência da intensidade de novas entradas nessas coortes. Similar observação foi relatada por Nunes (2008), quando da observação sobre entrada ou reposição canina independente da eutanásia.

Neste estudo, constatou-se que, em mais de 80% dos domicílios com cães infectados, houve a reposição de um ou mais cães, e cerca de 22% desses domicílios voltaram a apresentar animais infectados nos inquéritos seguintes, o que confirmou a persistência das condições para a manutenção dos focos de transmissão.

Em relação á evolução da prevalência da infecção canina, no bairro Santa Terezinha observou-se percentuais de soropositividade de 6,3; 6,7; 6,3; 1,9; 5,2; 10,3; 10,1 e 7,2, respectivamente do primeiro ao oitavo inquérito realizado. Para o Parque Manchester foi 26,0; 5,5; 4,6; 1,7; 3,9; 7,4; 9,9; 4,3, do primeiro ao oitavo inquérito. Por volta do décimo oitavo mês de estudos e aplicação das estratégias de controle referidas acima, observou-se rápida redução na presença de sintomatologia e clínica compatível com LV canina entre os cães soropositivos a partir do segundo inquérito. Observou-se também drástica redução da própria soroprevalência, reduzida para abaixo de 2,0%. Porém, a seguir, a cada novo inquérito os valores de prevalência voltaram aos patamares anteriores.

Em relação ao bairro Jardim Helena observou-se percentuais de soropositividade 9,0; 6,7; 16,9, respectivamente do primeiro até o terceiro inquérito. Para o Jardim Vanuire foi 14,5; 8,3 e 5,4, do primeiro ao terceiro inquérito.

A estratégia com inquéritos semestrais e a ação de realizar a coleta da amostra de sangue; realização do diagnóstico laboratorial; emissão do laudo com os resultados e, posterior recolhimento e eutanásia dos animais soropositivos com um intervalo máximo de 20 dias se observou uma drástica redução na prevalência da infecção canina, seguindo-se um recrudescimento na prevalência nos períodos e inquéritos seguintes.

Em um estudo de Grimaldi *et al* (2012) observou que a detecção e a eliminação de cães soropositivos com a doença ativa logo após a detecção pode afetar temporariamente o número de infecções caninas, embora seja insuficiente como medida para interromper a transmissão zoonótica de *L. infantum*, sendo evidenciado pela detecção de cães recém-infectados a cada 4 meses ao longo do estudo.

A transmissão contínua observada durante o estudo foi atribuída, pelos autores, a incompleta retirada de cães infecciosos, uma vez que nem todos os cães soropositivos foram eutanasiados. Acrescentaram ainda que a maioria dos animais assintomáticos tem níveis baixos de anticorpos que podem não ser detectados nos exames sorológicos (Grimaldi *et al* 2012).

Embora as infecções latentes em cães sejam típicas, a relevância epidemiológica destas infecções é mal compreendida, havendo necessidade de desenvolvimento de ensaios mais precisos, que sejam capazes de detectar não apenas cães sintomáticos com exames parasitológicos positivos, mas também, cães assintomáticos soropositivos já infecciosos para os flebotomíneos (Falqueto *et al*, 2009, Palatnik-de-Sousa *et al*, 2001).

Tal como preconizado no PVCLV, os animais infectados foram recolhidos e submetidos à eutanásia no Centro de Controle de Zoonoses de Bauru. Em junho de 2008, para o bairro Santa Terezinha, ocasião do primeiro inquérito, foram examinados 127 cães e oito (6,3%) foram encontrados infectados. No início dos estudos, oito (4,4%) domicílios apresentaram-se positivos para a presença de cães com LVC. No final, após a realização de oito inquéritos, foram examinados 478 animais, dos quais 59 (12%) tiveram diagnóstico positivo, com 41 (22,8%) domicílios com a presença de 1 até 5 animais naturalmente infectados. A estratégia de realizar semestralmente a identificação e retirada dos reservatórios caninos possibilitou drástica redução na prevalência da infecção canina nos primeiros 18 meses, seguindo-se um recrudescimento na prevalência nos períodos e inquéritos. O mesmo foi observado em relação ao Parque Manchester.

Inicialmente, esses resultados poderiam estar relacionados com a eficiência, no tempo para a remoção de cães soropositivos e o efeito dessas práticas em relação às variações sazonais na transmissão (Quinnell *et al*, 1997, Courtenay *et al.*, 2002).

Diferentes estudos demonstraram que a eliminação do cão tem um impacto limitado no controle de leishmaniose visceral (Dietze *et al.*, 1997, Ashford *et al.*, 1998; Braga *et al.*, 1998; Courtenay *et al.*, 2002).

Teoricamente, uma alta proporção de cães tem que ser eutanasiados para alcançar uma redução acentuada na transmissão de doenças (Dye, 1996; Burattini *et al.*, 1998).

Em um estudo realizado no nordeste, em Jacobina na Bahia avaliou a eliminação de cães soropositivos para LVC, e verificou no início uma

diminuição significativa na incidência anual de soroconversão de 36% a 6% entre os cães nos dois primeiros anos, nos dois anos seguintes, a incidência aumentou para 11% e 14%, respectivamente. Nesse mesmo estudo em uma área de controle em que os cães foram pesquisados e os soropositivos não foram removidos, a incidência cumulativa não variou significativamente de ano para ano, variando de 16% a 27%. Na área de intervenção, a prevalência de soropositividade de cães diminuiu de 36% antes da intervenção com a retirada dos cães para 10% e manteve-se estável. Os resultados deste estudo sugerem que a eliminação da maioria dos cães soropositivos pode afetar a incidência cumulativa de soroconversão em cães temporariamente e também pode diminuir a incidência de casos humanos de leishmaniose visceral (Ashford *et al*, 1998).

Diferente do presente trabalho, Barboza *et al.* (2006), realizou um estudo no município de Camaçari, não observaram significância estatística entre cães que soroconverteram e as seguintes variáveis: ocorrência anterior de caso de LV humana em casa ou na vizinhança, relato da presença de cão soropositivo no domicílio e ocorrência anterior de cão positivo na casa. Já a presença de galinhas ou suínos no peridomicílio se mostraram significativas.

Muitos estudos relatam que a falha na redução da incidência da LVC com o programa de retirada e eutanásia de cães soropositivos é devido a demora da identificação destes cães e a demora da retirada para eutanásia que é em torno de 80-180 dias (Braga *et al*,1998,Viera e Coelho, 1998).

Em estudo realizado no Ceará utilizando o teste de ELISA para a identificação e eliminação de cães infectados dentro de um prazo máximo de 7 dias. A prevalência da LVC foi avaliada em duas áreas distintas, antes e 10 meses após a medição inicial. Na área submetida ao controle de rotina do PVCLV, desde a coleta de sangue dos animais até a eutanásia eram necessários cerca de 80 dias, com registro de um decréscimo de 9% na prevalência, enquanto na área submetida ao método proposto à redução observada foi de 27% (Braga *et al*,1998).

No presente estudo, na análise dos fatores de risco para a LVC foi observado um limitado risco para LV canina para o componente tempo de

exposição no ambiente endêmico, para os cães que permaneceram entre 6 e 42 meses expostos no ambiente endêmico. Para os bairros Santa Terezinha e Parque Manchester 65,9%(29/44) cães com diagnóstico positivo revelaram-se infectados num período entre seis e doze meses.

Para os bairros Santa Terezinha e Parque Manchester foi possível determinar que a presença de mais de dois cães no domicílio representou um risco para LV canina entre 2,1 e 2,6 vezes maior do que nos imóveis com apenas um ou dois animais.

Em 77% (55/71) dos domicílios com cães positivos havia a presença de um número de cães que variou entre 3 e 13 animais em cada imóvel.

Estes resultados fortalecem do ponto de vista operacional, a estratégia de busca ativa da infecção canina em intervalos de doze meses.

Coura-Vital (2011) observou que os domicílios onde já houve caso de LVC constituem risco de infecção para os outros cães da mesma residência, provavelmente, devido ao fato deste domicílio possuir ambiente propício ao desenvolvimento do vetor, tornando o local favorável a novos casos por representar um risco óbvio de infecção.

Silva *et al.* (2012) observaram, em Teresina-PI, que a existência de um cão soropositivo foi cinco vezes mais frequente em residências que tiveram caso anterior de LVC nos últimos 12 meses, evidenciando a ineficácia da estratégia de eliminação dos cães infectados em interromper o ciclo de transmissão em ambientes urbanos, visto que, após a remoção do animal, as condições básicas que permitem o aparecimento de novos casos caninos ainda permanecem no local.

Outros autores relataram a associação entre soropositividade e cães que residiam em casas com registro prévio de LV canina, sugerindo a existência de outras variáveis de risco locais, como a presença de outras espécies de animais domésticos e silvestres atuando como reservatórios de *L. infantum*, que podem contribuir na manutenção do ciclo de transmissão do parasito, mesmo após a eutanásia ou a morte natural do cão infectado (Dietze *et al.*, 1997; Dereure *et al.*, 2003).

Após analisar os dados do Diagamb das casas que os animais tiveram soroconversão no bairro Santa Terezinha foi observado: 75% com peridomicílio menor / igual que 200m²; 66% com vegetação com sombra; 50% com folhas e frutos; 8,3% com fezes de animais e esterco para adubo. Para o Parque Manchester foi assinalado: 76,9% com peridomicílio menor / igual que 200m²; 69,2% com vegetação com sombra; 30,8% com folhas e frutos em 30,8%; sem registros de presença de fezes de animais e esterco para adubo quando examinadas as casas dos animais que soroconverteram positivo para LV.

Os bairros Santa Terezinha e Parque Manchester ficam localizados nos arredores da reserva Eneas de Carvalho Aguiar, na periferia do município de Bauru. O bairro Santa Terezinha apresenta um padrão urbano com ruas pavimentadas e blocos bem definidos e casas de alvenaria. O Parque Manchester apresenta características de ocupação recente, com ruas sem pavimentação, muitos animais, casas em construção, barracas e algumas terras desocupadas durante o período dos estudos. Nesses dois bairros muitas casas tinham presença de outros animais.

Esses dados podem sugerir condições ambientais favoráveis para o estabelecimento de criadouros do vetor, principalmente pela presença de áreas com vegetação, sombreamento e matéria orgânica.

Conforme Solano-Gallego et al. (2009), a contínua exposição ao vetor pode favorecer o desenvolvimento da doença, visto que o parasito é continuamente reintroduzido.

Gonçalves (2014) avaliou diversas características relacionadas ao domicílio e peridomicílio dos cães e muitas delas mostraram ser relevantes na manutenção do vetor e da cadeia de transmissão da doença como: relatos de LVC no local ou na vizinhança, relatos de leishmaniose humana, criação de galinhas ou de outras espécies além da canina, localização em rua com presença de galinhas, localização em ruas não pavimentadas e localização próxima à mata.

A presença de galinhas ou suínos no peridomicílio como fator de risco associado à positividade dos cães à LV foi relatada por diversos autores

(Azevedo *et al.*, 2008, Barboza *et al.*, 2006, Julião, 2004, Moreira Jr *et al.*, 2003, Oliveira, 2003). Essa associação se deve, provavelmente, ao fato destes animais representarem uma fonte de alimentação, não só para o vetor, como para alguns animais silvestres – potenciais reservatórios de *L. infantum* – atraindo-os conseqüentemente para o peridomicílio (Alexander *et al.*, 2002), além de proporcionar condições ambientais (umidade e acúmulo de matéria orgânica no solo) para a criação do vetor no peridomicílio, favorecendo o desenvolvimento das fases larvais da *L. longipalpis* (Ferro *et al.*, 1995, 1997).

Alguns estudos também identificaram que a proximidade da moradia dos cães da mata e vegetação abundante podem ser como fatores de risco para a infecção por *Leishmania sp.* (Gonçalves, 2014, Silva *et al.*, 2001, Silva *et al.*, 2005). Neste contexto, Uchôa *et al.* (2001) e Santos *et al.* (2005) afirmaram que a ocupação desordenada provocada pelo do homem, principalmente próximo a encostas e/ou matas, acarretando desequilíbrios ambientais, favorece a instalação do ciclo extraflorestal da doença, beneficiando seu caráter peridomiciliar.

Alguns estudos avaliam a soroprevalência da LVC abordando questões de susceptibilidade à infecção relacionadas à raça, porte, pelo e idade (Sideris *et al.*, 1996; Franca-Silva *et al.*, 2003; Moreira *et al.*, 2003; Mohebbali *et al.*, 2005); entretanto, poucos analisam as variáveis relacionadas ao ambiente onde o cão está inserido e seu comportamento (Cabrera *et al.* 2003; Almeida *et al.* 2009; Galvez *et al.* 2010). Até o momento, poucos estudos investigaram potenciais fatores associados à infecção canina por *L. infantum*, como as características relacionadas ao domicílio e peridomicílio, nível socioeconômico, cuidados do proprietário com o cão e comportamento do animal. Estes devem ser melhor investigados, e assim ajudar a compreender a importância deste hospedeiro na manutenção da LV no ambiente urbano.

A paisagem é elemento fundamental para o estabelecimento de focos naturais para a transmissão de *L. infantum chagasi*. Se as condições ambientais são favoráveis à persistência do vetor, e havendo reposição

frequente de hospedeiros caninos assintomáticos, há que se esperar pela perpetuação dos focos de transmissão e insucesso das demais medidas de controle preconizadas no PVCLV.

5. Conclusões:

Ao final dos estudos foi possível concluir:

1. Pela confirmação da presença de cães infectados em domicílios dos bairros Santa Terezinha, Parque Manchester, Jardim Helena e Jardim Vanuíre;
2. Pela autoctonia de transmissão da LVC, com possível presença de focos naturais em todos os quatro bairros;
3. Não houve diferenças significantes na prevalência de resultados positivos para LV canina entre as estratégias de realização de inquéritos semestrais ou anuais;
4. Independente da presença de cães infectados, em todos os quatro bairros foi frequente o ingresso ou adoção de novos cães;
5. A grande maioria necessitou participar de apenas um único inquérito para que se fizesse essa confirmação. Para os quatro bairros, a maioria dos cães infectados 68,3% (114/167) foi assim diagnosticado no primeiro e único inquérito sorológico em que participaram, sendo possível admitir que estivessem infectados antes do ingresso nas coortes em estudo;
6. Para os bairros Jardim Helena e Jardim Vanuíre, em que foram realizados inquéritos anuais, respectivamente 76,2% (16/21) e 95,5% (42/44) foram diagnosticados positivos para a LVC no primeiro inquérito que participaram;
7. Presença nas comunidades desses bairros de um comportamento de “reposição” canina, após diagnóstico, recolhimento e eutanásia de cães soropositivos, principalmente nos domicílios dos bairros Santa Terezinha e Parque Manchester;
8. Que o tempo de exposição no ambiente endêmico foi identificado como risco limitado uma vez que 65,9% (29/44) cães com diagnóstico

positivo revelaram-se infectados num período entre seis e doze meses;

9. .Que a presença de mais de dois cães no domicílio representou um risco para LV canina entre 2,1 e 2,6 vezes maior do que nos imóveis com apenas um ou dois animais;
10. Nos domicílios com a presença de cães infectados foram identificadas condições ambientais favoráveis para o estabelecimento de criadouros do vetor, principalmente pela presença de áreas com vegetação, sombreamento e material orgânico em decomposição;
11. A constante introdução ou reposição de novos cães e o número de animais por domicílios representaram importantes fatores para a manutenção da enzootia canina, sendo necessários mais estudos para melhor dimensionamento desses riscos e, para subsidiar ações relacionadas ao controle da LV nesses bairros.

7. Referências Bibliográficas

Abranches P, Silva-Pereira MCD, Conceição-Silva FM, Santana-Gomes GM, Janz JG. Canine leishmaniasis: pathological and ecological factors influencing transmission of infection. *J Parasitol.* 1991; 77: 557–561.

Akhoundi M, Kuhls K, Cannet A, Votýpka J, Marty P, Delaunay P, Sereno D. A Historical Overview of the Classification, Evolution, and Dispersion of Leishmania Parasites and Sandflies. *PLoS Negl Trop Dis.* 2016; 10(3):1-40.

Alvar J, Yactayo S, Bern C. Leishmaniasis and poverty. *Trends in Parasitology.* 2006; 22(12):552–7.

Alencar JE e Cunha RV. Inquérito sobre calazar no Ceará- Novos resultados. *Rev Bras Malariol Doen Trop.* 1963; 15: 391– 403.

Almeida AB, Faria RP, Pimentel MF, Dahroug MA, Turbino NC, Sousa VR. Seroepidemiological survey of canine leishmaniasis in endemic areas of Cuiaba, State of Mato Grosso. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2009; 42: 156-159.

Andrade AM. Dinâmica populacional canina na área do município de Araçatuba-SP, no período de 1994 a 2004, 2006. 76 p. [Dissertação] Araçatuba. Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista. 2006.

Andrade AM, Queiroz LH, Nunes Gilson R, Perri SHV, Nunes CM. Reposição de cães em área endêmica para leishmaniose visceral. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2007; 40(5): 594-595.

Antoniali SAC. Spatial analysis of American Visceral Leishmaniasis in Mato Grosso do Sul State, Central Brazil. *J Infect.* 2007; 54(5):509-14.

Alves Maria Cecilia Goi Porto, Matos Marina Ruiz de, Reichmann Maria de Lourdes, Dominguez Margareth Harrison. Dimensionamento da população de cães e gatos do interior do Estado de São Paulo. Rev. Saúde Pública . 2005; 39(6): 891-897.

Ashford RW. Leishmaniasis reservoirs and their significance in control. Clinics in Dermatology. 1996; 14:523–532.

Ashford DA, David JR, Freire M, David R, Sherlock I, Eulalio MC, Lopes U, Sampaio DP, Badaro R. Studies on control of visceral leishmaniasis: impact of dogs control on canine and human visceral leishmaniasis in Jacobina, Bahia, Brazil. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1998; 59: 53–57.

Azevedo MAA. *et al.* Avaliação da leishmaniose visceral canina em Poxoréo, Estado do Mato Grosso, Brazil. Rev. Bras. Parasitol. 2008; 17(3): 123-127

Barboza DCPM, Gomes Neto CM, Leal D, Bittencourt DV, Carneiro AJ, Souza BM. *et al.* Estudo de coorte em áreas de risco para leishmaniose visceral canina, em municípios da Região Metropolitana de Salvador, Bahia, Brasil Rev. Bras. Saúde Prod. An. 2006; 7,(2): 152-163.

Barata RB. Cem anos de endemias e epidemias. Cienc Saude Coletiva. 2000; 5(2):333-345.

Bates PA. Transmission of *Leishmania metacyclic* promastigotes by phlebotomine sand flies. International Journal for Parasitology. 2007; 37(10)1097-1106.

Braga MDM, Coelho ICB, Pompeu MML, Evans TG, Mac Aullife IT, Teixeira MJ, Lima JWO. Controle do calazar canino: comparação dos

resulted os de um programa de eliminação rápida de cães sororreagentes por ensaio imuno-enzimático com outro de eliminação tardia de cães sororreagentes por testes de imunofluorescência indireta de eluato de papel filtro. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 1998; 31: 419–424.

Brito VN. Phlebotomine fauna, natural infection rate and feeding habits of *Lutzomyia cruzi* in Jaciara, state of Mato Grosso, Brazil. Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz. 2014; 109(7):899–904.

Brown C. Emerging zoonoses and pathogens of public health significance – an overview. Rev.sci.tech.Off.int.Epiz. 2004; 23(2):435-442.

Burattini MN, Coutinho FAB, Lopez LF, Massad E. Modeling the dynamics of leishmaniasis considering human, animal host and vector populations. J. Biol. Syst. 1998; 6: 337–356.

Cabrera MA, Paula AA, Camacho LA, Marzochi MC, Xavier SC, da Silva AV, Jansen AM. Canine visceral leishmaniasis in Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro, Brazil: assessment of risk factors. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2003; 45: 79-83.

Camargo-Neves VLF, Katz G. Leishmaniose visceral americana no Estado de São Paulo. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 1999; 32(Supl.II): 63-4.

Camargo-Neves VLF, *et al.* Utilização de ferramentas de análise espacial na vigilância epidemiológica de leishmaniose visceral americana – Araçatuba, São Paulo, Brasil, 1998-1999. Cad Saude Publica. 2001; 17(5):1263-7.

Camargo-Neves, V. A Leishmaniose Visceral Americana no Estado de São Paulo: situação atual. Bol Epidemiol Paulista. 2007; 4(48):12–4.

Cardim, MFM, Rodas LAC, Dibo MR, Guirado MM, Oliviera AM, Chiaravalloti-Neto F. Introdução e expansão da leishmaniose visceral Americana no estado de São Paulo no período de 1999 A 2011. Rev. Saúde Públ. S. Paulo. 2013; 47(4):691–700.

Chatterjee KD. Dermal leishmanoid. In: ChatterjeeKD Editor Parasitology, 12th edition. Calcutta: Chatterjee Medical Publishers. 1980. p.64-65. 1980.

Ciaravolo RMC, Oliveira SS, Hiramoto RM, Henriques LF, Taniguchi HH, Junior AF, *et al.* Classificação Epidemiológica dos Municípios Segundo o Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral no Estado de São Paulo, dezembro de 2014. Bol Epidemiol Paulista. 2015; 12(143):9-22.

Costa CHN, Vieira JBF.. Mudanças no controle da leishmaniose visceral no Brasil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2001; 34(2);223-8.

Costa CHN, Pereira HF, Araujo MV. Epidemia de leishmaniose visceral no estado do Piauí, Brasil, 1980-1986. Rev Saude Publica. 1990; .24(5):361-372.

Costa CH, Werneck GL, Rodrigues L Jr, Santos MV, Araújo IB, Moura LS, Moreira S, Gomes RB, Lima SS. Household structure and urban services: neglected targets in the control of visceral leishmaniasis. Ann Trop Med Parasitol. 2005; 99(3):229-36.

Costa JML, Viana GMC., Saldanha ACR, Nascimento MDSB, Alvim AC, Burattini MN. *et al.* Leishmaniose visceral no Estado do Maranhão, Brasil. A evolução de uma epidemia. Cad Saúde Pública. 1995; 11(2):321-4.

Costa AIP, Casanova C, Rodas LAC, Galati EAB. Atualização da distribuição geográfica e primeiro encontro de *Lutzomyia longipalpis* em área

urbana no Estado de São Paulo, Brasil. Rev Saude Publica. 1997; 31(6):632-3.

Costa CHN. Characterization and speculations on the urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil Caracterização e especulações acerca da urbanização da leishmaniose visceral no Brasil. Cad. Saúde Pública. 2008; 24(12):2959–2963.

Coura-Vital W. Estudo epidemiológico prospectivo em cães assintomáticos infectados por *Leishmania (Leishmania) infantum* e identificação de biomarcadores de infecção. 2011. [Tese] . Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

Courtenay O, Quinnell RJ, Garcez LM, Shaw JJ, Dye C. Infectiousness in a cohort of Brazilian dogs: why culling fails to control visceral leishmaniasis in areas of high transmission. J Infect Dis. 2002; 186: 1314–1320.

Cruz I, Morales MA, Nogueira I, Rodríguez A, Alvar J. *Leishmania* in discarded syringes from intravenous drug users. Lancet. 2002; 359(9312):1124-5.

Dantas-Torres F, Brandão-Filho SP. Visceral leishmaniasis in Brazil: revisiting paradigms of epidemiology and control. Rev Inst Med Trop São Paulo. 2006; 48 (3): 151-156.

Dantas-Torres F. The role of dogs as reservoirs of *Leishmania* parasites with emphasis on *Leishmania (Leishmania) infantum* and *Leishmania (Viannia) braziliensis*. Veterinary Parasitology. 2007; 149:139–146.

Davies CR, Reithinger R, Campbell-Lendrum D, Feliciangeli D, Borges R, Rodriguez N. The epidemiology and control of leishmaniasis in Andean countries. *Cad Saude Publica*. 2000; 16(4):925-950.

Deane LM, Deane MP. Visceral leishmaniasis in Brazil. Geographical distribution and transmission. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1962; 4:149–212.

Desjeux P. Leishmaniasis. Public health aspects and control. *Clin Dermatol*. 1996;14(5):417-23.

Desjeux P. The increase in risk factors for leishmaniasis worldwide. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2001; 95(3):239-243.

Desjeux P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 2004; 27(5):305–318.

Dereure J, El-Safi SH, Bucheton B, Boni M, Kheir MM, Davoust B, *et al*. Visceral leishmaniasis in eastern Sudan: parasite identification in humans and dogs; host-parasite relationships. *Microbes and Infection*. 2003; 5: 1103-1108.

Dietze R, Barros GB, Teixeira L, Harris J, Michelson K, Falqueto A, Corey R. Effect of eliminating seropositive canines on the transmission of visceral leishmaniasis in Brazil. *Clin. Infect. Dis*. 1997; 25: 240–242.

Dye C. The logic of visceral leishmaniasis control. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 1996; 55: 125–130.

Donovan C.. On the possibility of the occurrence of trypanosomiasis in India. *British Medical Journal*. 1903; 2: 79.

Duprey ZH, *et al*. Canine Visceral Leishmaniasis, 2000–2003.

Emerging Infectious Diseases. 2006; 12(3):440-6.

Elmahallawy EK. Diagnosis of leishmaniasis. The Journal of Infection in Developing Countries. 2014; 8(8):961-972.

Falqueto A, Ferreira AL, Santos CB, Porrozzi R, Santos da Costa MV, Teva A, Cupolillo E, Campos-Neto A, Grimaldi G Jr. Cross-sectional and longitudinal epidemiologic surveys of human and canine *Leishmania infantum* visceral infections in an endemic rural area of southeast Brazil (Pancas, Espírito Santos). Am J Trop Med Hyg. 2009; 80: 559–565.

Ferro C *et al.* Age structure, blood-feeding behavior, and *Leishmania chagasi* infection in *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: *Psychodidae*) at an endemic focus of visceral leishmaniasis in Colombia. Journal of Medical Entomology. 1995; 32: 618–629.

Ferro C, Pardo R, Torres M, Morrison AC.. Larval microhabitats of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: *Psychodidae*) in an endemic focus of visceral leishmaniasis in Colombia. J Med Entomol. 1997; 34(6):719-28.

Franca-Silva JC, da Costa RT, Siqueira AM, Machado-Coelho GL, da Costa CA, Mayrink W, Vieira EP, Costa JS, Genaro O, Nascimento E. Epidemiology of canine visceral leishmaniasis in the endemic area of Montes Claros Municipality, Minas Gerais State, Brazil. Veterinary parasitology. 2003; 111: 161-173.

Galvez R, Miro G, Descalzo MA, Nieto J, Dado D, Martin O, Cubero E, Molina R. Emerging trends in the seroprevalence of canine leishmaniasis in the Madrid region (central Spain). *Vet Parasitol.* 2010; 169: 327-334.

García AL, Parrado R, Rojas E, Delgado R, Dujardin JC, Reithinger R. Leishmaniasis in Bolivia: Comprehensive Review and Current Status. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2000; 80(5):704–711.

Gaskin AA, Schantz P, Jackson J, Birkenheuer A, Tomlinson L, Gramiccia M, *et al.* Visceral Leishmaniasis in a New York Foxhound Kennel. *J Vet Intern Med.* 2002; 16(1):34-44.

Grimaldi G, Teva A, Santos CB, Ferreira AL, Falqueto A. The Effect of Removing Potentially Infectious Dogs on the Numbers of Canine *Leishmania infantum* Infections in an Endemic Area with High Transmission Rates. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.* 2012; 86(6):966-971.

Gutierrez A, *et al.* Avaliação da técnica de microcultura no crescimento primário de *Leishmania* spp para o diagnóstico das leishmanioses. In: 12a Reunião de Pesquisa Aplicada em Leishmanioses; 2008 out 23-25; Uberaba: Universidade Federal do Triângulo Mineiro Uberaba; 2008. Anais 287.

Gonçalves MB. Prevalência, distribuição e identificação de prováveis fatores de risco para leishmaniose visceral canina em Camaçari-BA [Dissertação]. Fundação Oswaldo Cruz Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz Fiocruz. 2014

Gontijo CMF, Melo MN. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. *Rev Bras Epidemiol.* 2004; 7(3):338-49.

Harhay MO, Oliaro PL, Costa DL, Costa CH. Urban parasitology: visceral leishmaniasis in Brazil. *Trends in Parasitology*. 2001; 27(9):403–9.

Herwaldt BL. Leishmaniasis. *Lancet*. 1999; 354(9185):1191–9.

Iversson LB, Camargo ME, Chieffi PP, Barros JAC. Investigação epidemiológica de um caso de Leishmaniose Visceral autóctone da Grande São Paulo, Brasil. *Rev Saúde Pública*. 1979; 13:159-67.

Iversson LB, Villanova A, Tolezano JE. Inquérito sorológico para pesquisa de leishmaniose visceral em população canino urbana do município de São Paulo, Brasil. *Rev Inst Med trop*. 1983; 25:310-17.

Iversson LB, *et al*. Investigação de um novo caso de Leishmaniose visceral ocorrido na Grande São Paulo, Brasil. *Rev Saúde Pública*. 1982; 16:205-19.

Jeronimo SM, *et al*. An urban outbreak of visceral leishmaniasis in Natal, Brazil. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg*. 1994; 88(4):386-8.

Julião FS. Estudo epidemiológico de focos de leishmaniose visceral canina na Região Metropolitana de Salvador, Bahia, Brasil. 2004. [Dissertação]. Salvador. Universidade Federal da Bahia. 2004.

Kalra NL, Bang YH. Manual on entomology in visceral leishmaniasis. Document SEA/VBC/35. New Delhi: World Health Organization. 1988.

Kitala P, McDermott J, Kyule M, Gathuma, J Perry, B, Wandeler A,. Dog ecology and demography information to support the planning of rabies control in Machakos District, Kenya. *Acta Trop*. 2001; 78: 217–230.

Killick-Kendrick R. The biology and control of Phlebotomine sand flies. *Clinics in Dermatology*. 1999; 17(3):279-89.

Kombe GC, Darrow DM. Revisiting emerging infectious diseases: the unfinished agenda. 2001; 26(2):113-122.

Kuhls K, Alam MZ, Cupolillo E, Gabriel Eduardo M. Ferreira , Isabel L. Mauricio IL, Oddone R, Feliciangeli MD, Wirth T, Miles MA, Schönian G. Comparative Microsatellite Typing of New World *Leishmania infantum* Reveals Low Heterogeneity among Populations and Its Recent Old World Origin. PLoS Negl Trop Dis. 2011; 5(6): 1-16.

Lainson R, Shaw, JJ, Lins ZC. Leishmaniasis in Brazil. IV. The fox, *Cerdocyon thous* (L) as a reservoir of *Leishmania donovani* in Pará State, Brazil. Trans R Soc Trop Med. 1969; 63(6):741-5.

Lainson L.; Shaw J.J. The role of animals in the epidemiology of South American leishmaniasis. In: Biology of the Kinetoplastida. London: Academic Press; 1979. p. 1-116.

Lainson R, Shaw JJ. Evolution, classification and geographical distribution. In: The leishmaniasis in biology and medicine. In W Peters & R Killick-Kendrick eds. London: Academic Press; 1987. 1:1-120.

Lainson R, Shaw JJ. Leishmaniasis in the new world. In: Collier L, Balows A, Sussman M, editors. Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections, 10th ed. London: E Arnold; 2005. p. 313-49.

Lanotte G, Rioux JA, Croset H, Vollhardt Y. Ecologie des leishmanioses dans le Sud de la France. VIII Complément à l'application épidémiologique de la technique d'immunofluorescence: les titres géométriques et arithmétiques moyens dans la leishmaniose canine. Ann Parasitol Hum Comp. 1975; 50: 1-5.

Laveran A, Mesnil F. Sur um protozoaire nouveau (*Piroplasma donovani* Lav. et Mesn.). Parasite d'une fièvre de l'Inde. Comptes Rendus Hebdomadaires de Séances de l'Académie des Sciences. 1903; 137: 957-61.

Leishman WB. On the possibility of the occurrence of trypanosomiasis in India. *British Medical Journal*. 1903; 1: 1252-54.

Lukes J, *et al.* Evolutionary and geographical history of the *Leishmania donovani* complex with a revision of current taxonomy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007; 104(22):9375–9380.

Mauricio IL, Howard MK, Stothard JR, Miles MA. Genomic diversity in the *Leishmania donovani* complex. *Parasitology*. 1999 Sep;119(Pt 3):237-46.

Mestre GLC, Fontes CJF. A expansão da epidemia da leishmaniose visceral no estado de Mato Grosso, 1998-2005. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2007; 409(1):42-8.

Mcgwire BS, Satoskar A R. Leishmaniasis: clinical syndromes and treatment. *Qjm*. 2014; 107(1):7–14.

Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. Serie A. Normas e Manuais Técnicos. Brasília, 2006.

Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de Vigilância Leishmaniose Tegumentar Americana. Serie A. Normas e Manuais Técnicos. Brasília, 2007. *Vet Parasitol*. 2008: 153(1-2):19-23.

Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Guia de vigilância epidemiológica In: Cad. 11, p. 31-64. 7 ed., Brasília, 2009.

Ministério da Saúde (2011) Esclarecimento sobre substituição do protocolo diagnóstico da leishmaniose visceral canina; Nota técnica conjunta nº 01/2011 - CGDT-CGLAB/DEVIT/SVS/MS.

Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de Vigilância em Saúde. Brasília. 2014.

Moheballi M, Hajjaran H, Hamzavi Y, Mobedi I, Arshi S, Zarei Z, Akhoundi B, Naeini KM, Avizeh R, Fakhar M. Epidemiological aspects of canine visceral leishmaniasis in the Islamic Republic of Iran. *Vet Parasitol* 2005; 129: 243-251.

Moreira Jr ED, Souza VMM, Sreenivasan M, Lopes NL, Barreto RB, Carvalho LP. Peridomestic risk factors for canine leishmaniasis in urban dwellings: new findings from a prospective study in Brazil. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*.2003; 69(4): 393-397.

Moreira ED, Souza VMM, Sreenivasan, M, Nascimento EG, Pontes-de-Carvalho L.. Assessment of an optimized dogculling program in the dynamics of canine *Leishmania* transmission. *Vet. Parasitol*. 2004; 122: 245–252.

Nunes CM, Lima VM, Paula HB, Perri SH, Andrade AM, Dias FE, Burattini MN. Dog culling and replacement in an area endemic for visceral leishmaniasis in Brazil.

Oliveira AG, Andrade Filho JD, Falcão SL, Brazil RP. Estudo de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) na zona urbana da

Cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil, 1999-2000. Cad. Saúde Pública . 2003; 19(4): 933-944.

Oliveira CDL, Diez-Roux A, César CC, Proietti FA. A case-control study of microenvironmental risk factors for urban visceral leishmaniasis in a large city in Brazil, 1999-2000. Rev Panam Salud Publica. 2006; 20(6): 369-376.

Oliveira AG, Galati EA, Fernandes CE, Dorval ME, Brazil RP. Seasonal variation of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: *Psychodidae: Phlebotominae*) in endemic area of visceral leishmaniasis, Campo Grande, state of Mato Grosso do Sul, Brazil. Acta Trop. 2008; 105(1):55-6.

Oliveira CL, Morais MHF, Machado-Coelho GLL. Visceral leishmaniasis in large Brazilian cities:challenges for control Cad. Saúde Pública. 2008; 24(12):2953-2958.

Owens SD, *et al.* Transmission of visceral leishmaniosis through blood transfusion from infected English foxhounds to anemic dogs. J Am Vet Med Assoc. 2001; 219(8):1076-83.

Palatnik-de-Sousa C.B., *et al.* Impact of canine control on the epidemiology of canine and human visceral leishmaniasis in Brazil. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 2001; 65(5):510–7.

Pozio E, Gradoni L, Bettini S, Gramiccia M. Leishmaniasis in Tuscany (Italy): VI Canine leishmaniasis in the focus of Monte Argentario (Grosseto). Acta Trop. 1981; 38: 383–393.

Quinnell RJ, Courtenay O, Garcez L, Dye C. The epidemiology of canine leishmaniasis: transmission rates estimated from a cohort study in Amazonian Brazil. *Parasitology*. 1997; 115: 143–156.

Rangel O, *et al.* Leishmaniose visceral no estado de São Paulo: Tendência geral da letalidade entre 1999 a 2013 e o risco de óbitos por estratificação epidemiológica dos municípios e regionais de Vigilância Epidemiológica entre 2011 a 2013. *Bol Epidemiol Paulista*. 2015; 12(143):1-8.

Ranque JM, Quilici M, Dunan S. Les leishmanioses de la region provencale. Considerations epidemiologiques et ecologiques. *Colloques Internationaux du CNRS. Ecologie des leishmanioses*. Paris: Centre National de la Recherche Scientifique. 1977; 239, 285–293.

Ready PD. Epidemiology of visceral leishmaniasis. *Clin Epidemiol*. 2014; 6:147-154.

Roque ALR, Jansen AM. Wild and synanthropic reservoirs of *Leishmania* species in the Americas. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*. 2014; 3(3):251–262.

Rosypal AC, Troy GC, Zajac AM, Frank G, Lindsay DS. Transplacental transmission of a North American isolate of *Leishmania infantum* in an experimentally infected beagle. *J Parasitol*. 2005; 91(4):970-972.

Ross R. Note on the Bodies Recently Described By Leishman and Donovan. *British Medical Journal*. 1903; 2:1261–2.

Ross R. Further notes on Leishman's bodies. *British Medical Journal*. 1903; 2: 1401.

Santos GPL, Sanavria A, Marzochi MCA, Santos EGOB, Silva VL, Pacheco RS. Prevalência da infecção canina em áreas endêmicas de leishmaniose tegumentar americana, do município de Paracambi, Estado do Rio de Janeiro, no período entre 1992 e 1993. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2005; 38(2): 161-166.

Scandar SAS, Silva RA, Cardoso-Júnior RP, Oliveira FH. Ocorrência de leishmaniose visceral americana na região de São José do Rio Preto, estado de São Paulo, Brasil. *Bol Epidemiol Paulista.* 2011; 8(88):13-22.

Schonian G. Leishmaniasis in the Mediterranean in the era of molecular epidemiology. *Trends Parasitol.* 2008; 24(3):135-142.

Silva ES, Gontijo CM, Pacheco RS, Fiuza VO, Brazil RP. Visceral leishmaniasis in the metropolitan Region of Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2001; 96(3):285-91.

Silva AVM, Paula AS, Cabrera MAC, Carreira JCA. Leishmaniose em cães domésticos: aspectos epidemiológicos. *Cad. Saúde Pública.* 2005; 21(1): 324-328.

Silva SBA *et al.* Controle da Leishmaniose Visceral Americana (LVA) no Estado de São Paulo. Disponibilidade de cães suscetíveis e o domicílio como fatores de risco para a perpetuação dos focos de transmissão da LVA em área endêmica de Bauru. *Bol Inst Adolfo Lutz.* 2012; 22(1):58-59

Silveira FT, Corbett CEP. *Leishmania chagasi* Cunha & Chagas, 1937: indigenous or introduced? A brief review. *Revista Pan-Amazônica de Saúde.* 2010; 1(2):143–7.

Singh S, Dey A, Sivakumar R. Applications of molecular methods for *Leishmania* control. *Expert Rev Mol Diagn.* 2005; 5(2):251–265.

Sharma U, Singh S. Insect vectors of *Leishmania*: Distribution, physiology and their control. *Journal of Vector Borne Diseases*. 2008; 45(4):255–72.

Sherlock IA. Ecological interactions of visceral leishmaniasis in the state of Bahia, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 1996; 91(6):671–83.

Short HE. The diagnosis of kala-azar. *Trop Dis Bull*. 1927; 44:145–150.

Sideris V, Karagouni E, Papadopoulou G, Garifallou A, Dotsika, E. Canine visceral leishmaniasis in the greater Athens area, Greece. *Parasite*. 1996; 3: 125–130.

Silva AR, Viana GMC, Varonil CPB, Pires B, Nascimento, Costa JML ML. Leishmaniose visceral (Calazar) na ilha de Sao Luis, Maranhao, Brasil: evolução e perspectivas. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1997; 30(5):359-368.

Silva JP *et al*. Factors associated with *Leishmania chagasi* infection in domestic dogs from Teresina, State of Piauí, Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop*. 2012; 45(4): 480-484.

Solano-Gallego L *et al*. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. *Vet Parasitol*. 2009; 165(1-2):1-18.

Symmers WS. Leishmaniasis acquired by contagion: A case of marital infection in Britain. *Lancet*. 1960; 275(7116):127-132.

Sundar S, Mondal D, Rijal S, Bhattacharya S, Ghalib H, Kroeger A, *et al*. Implementation research to support the initiative on the elimination of kala azar from Bangladesh, India and Nepal--the challenges for diagnosis and treatment. *Trop Med Int Health*. 2008; 13(1):2-5.

Tilley LP, Smith Jr FWK. Consulta veterinária em cinco minutos. Espécies canina e felina. 3.ed., São Paulo: Manole, 2008.

Tolezano J.E. Ecoepidemiologia da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA). Perpetuação da LTA no Estado de São Paulo, região endêmica de colonização antiga. [Tese] São Paulo: Biologia da Relação Patógeno-Hospedeiro/Departamento de Parasitologia – Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo. 2000.

Uchôa CMA, Serra CMB, Duarte R, Magalhães CM, Silva RM, Theophilo F *et al.* Aspectos sorológicos e epidemiológicos da leishmaniose tegumentar americana canina em Maricá, Rio de Janeiro, Brasil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2001; 34(6): 563-568.

Viana GMC. Relationship between rainfall and temperature: observations on the cases of visceral leishmaniasis in São Luis Island, State of Maranhão, Brazil. Rev Soc Bras Med Trop. 2011; 44(6):722-724.

Vieira JB, Coelho GE. Leishmaniose visceral ou calazar: aspectos epidemiológicos e de controle.[Visceral leishmaniasis or kala-azar: the epidemiological and control aspects]. Rev Soc Bras Med Trop. 1998; 31(2): 85-92.

World Health Organization (WHO). Report of scientific working group on leishmaniasis . WHO/TDR/SWG. Geneva(SWE); 2004.

World Health Organization. Control of the leishmaniases: Report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, Geneva, 22–26 March 2010. WHO Technical Report Series. Geneva(SWE); 2010.



GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
COORDENADORIA DE CONTROLE DE DOENÇAS
INSTITUTO ADOLFO LUTZ
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS
CEUA-IAL



ANEXO E

São Paulo, 07 de março de 2014.

Parecer Projeto 01/2014 – CEUA-IAL

Venho pela presente informar que o projeto de pesquisa intitulado “Epidemiologia e Controle da Leishmaniose Visceral Americana: Estudo de coorte de cães em áreas endêmicas no Município de Bauru no Estado de São Paulo”, sob coordenação do Dr. José Eduardo Tolezano, Pesquisador Científico e Diretor do Centro de Parasitologia e Micologia do Instituto Adolfo Lutz - Central, foi considerado **APROVADO**, e poderá ser realizado conforme procedimentos delineados apresentados a esta Comissão.

O presente projeto utilizará no total 557 amostras de cães machos e 703 cães fêmeas.

Informamos que devem ser encaminhados relatórios **ANUAIS** à CEUA-IAL, no intuito de acompanharmos os procedimentos realizados segundo os aspectos éticos e sanitários e permitindo também a elaboração de relatórios anuais que são realizados por esta CEUA-IAL e que são encaminhados ao Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), conforme a Lei Federal 11.794 de 8 de outubro de 2008.

Atenciosamente,

Raquel dos Anjos Fazioli
Coordenadora da CEUA-IAL

RAF/raf

Endereço: Avenida Doutor Arnaldo, n° 355
11° Andar – Salas 1102 – Cerqueira César
São Paulo – SP – CEP: 01246-902
Tel: (11) 3068-2887 – e-mail: ceua@ial.sp.gov.br