

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor ,
o texto completo desta dissertação
será disponibilizado somente a partir
de 02/03/2020.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

DETERMINAÇÃO DE ÁREAS DE RISCO DE LEPTOSPIROSE HUMANA A
PARTIR DO DIAGNÓSTICO MOLECULAR EM RATOS (*Rattus norvegicus*)

MAYSA PELLIZZARO

Botucatu - SP

Março, 2018

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

DETERMINAÇÃO DE ÁREAS DE RISCO DE LEPTOSPIROSE HUMANA A
PARTIR DO DIAGNÓSTICO MOLECULAR EM RATOS (*Rattus norvegicus*)

MAYSA PELLIZZARO

Dissertação apresentada junto ao
Programa de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária para obtenção
do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Helio Langoni
Co-Orientador: Profa. Dra. Camila
Marinelli Martins

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Pellizzaro, Maysa.

Determinação de áreas de risco de leptospirose humana a partir do diagnóstico molecular em ratos (*Rattus norvegicus*) / Maysa Pellizzaro. - Botucatu, 2018

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Helio Langoni

Coorientador: Camila Marinelli Martins

Capes: 50502000

1. *Leptospira*. 2. Fatores de risco. 3. Ratos. 4. Leptospirose. 5. Zoonoses.

Palavras-chave: *Leptospira* spp; fatores de risco; rato de esgoto.

Nome da Autora: Maysa Pellizzaro

Título: Determinação de áreas de risco de leptospirose humana a partir do diagnóstico molecular em ratos (*Rattus norvegicus*)

COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA

Prof. Titular Helio Langoni

Presidente e Orientador

Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública

FMVZ – UNESP – Botucatu

Prof. Dr. Marcio Garcia Ribeiro

Membro

Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública

FMVZ – UNESP – Botucatu

Prof. Dr. Alexander Welker Biondo

Membro externo

Departamento de Medicina Veterinária

Universidade Federal do Paraná – Curitiba

Data da defesa: 02 de março de 2018.

Dedicatória

A todas as pessoas que trabalham direta ou indiretamente com saúde pública no Brasil, e dedicam seu tempo para desenvolver estratégias para melhorias das condições dos desfavorecidos da nossa sociedade desigual.

Agradecimentos

Aos meus pais, Catia Mara Pellizzaro e Valdemar Pellizzaro, por acreditarem nos meus sonhos e dedicarem suas vidas para que fosse possível trilhar meu caminho até aqui. Todo meu amor a vocês.

Ao meu irmão Estevam Pellizzaro, que trouxe ao mundo minha sobrinha Bianca, que reacendeu em mim a vontade de trabalhar por um mundo melhor.

À minha madrinha, Lúcia Pellizzaro Martins, por ser exemplo de mulher num mundo desigual, e mostrar que podemos chegar onde quisermos, se batalharmos com esforço dobrado.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Helio Langoni, por acreditar na minha capacidade e abrir as portas da UNESP para que eu pudesse desenvolver este projeto.

À minha coorientadora e amiga, Dra. Camila Marinelli Martins, pela ajuda incansável no desenvolvimento e análises, inclusive nos finais de semana e feriados em Curitiba.

Ao antigo orientador e amigo, Prof. Dr. Alexander W. Biondo, que foi o primeiro a perceber e acreditar na minha capacidade para pesquisa.

À amiga Profa. Dra Vivien M. Morikawa (UFPR) e coordenadora da Unidade de Vigilância de Zoonoses, da Prefeitura de Curitiba, que me apresentou ainda em 2009 a importância da leptospirose no município, e abriu as portas para que eu pudesse explorar os dados da vigilância e desenvolver este trabalho. Agradeço ainda o biólogo, Diogo da Cunha Ferraz, da mesma instituição, que auxiliou na obtenção de dados e tomada de decisões.

À equipe do Laboratório de Zoonoses e Epidemiologia Molecular (UFPR), em nome do Prof. Dr. Rafael F. C. Vieira por cederem o espaço para manipulação das amostras.

Às amigas e mãos voluntárias, alunas de iniciação científica da UFPR, que me ajudaram nas capturas e coletas do projeto: Amanda Haisi, Evelyn Cristine da Silva, Suzana Maria Rocha e em especial à Ana Carolina Yamakawa, que foi meu braço direito e ombro amigo no desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos residentes da UFPR, que me auxiliaram, principalmente a esclarecer os achados diferentes nas coletas dos roedores: Daniel Agibert da Luz, Daniel C. C. Rocha e Luciana Machado da Silva.

À mestranda da UFPR, Eloisa Muehlbauer, que foi essencial para que os animais fossem anestesiados de maneira adequada.

À Leila S. Ullmann que foi a primeira pessoa que me apoiou e incentivou a transformar minha vida mudando-me para Botucatu.

À grata surpresa que Botucatu me trouxe, amiga Sâmea F. Joaquim, que foi a primeira a estender a mão e me ajudar na bancada do laboratório e na palavra de conforto. E ao amigo Felipe Dalanezi “Teflon”, por me fazer rir nas horas difíceis e trazer calma no chocolate compartilhado.

À amiga Pamela M. Marson, que dividiu comigo muito mais que o teto de uma casa, mas a companhia na lágrima e na comemoração durante esses dois anos; e à Selene D. Babboni, pelas risadas e gritos nos momentos difíceis.

Aos residentes da “zoonoses”, que passaram pelo laboratório nesses dois anos e me ajudaram no preparo de materiais para esta pesquisa.

Aos demais amigos que me ajudaram de alguma forma no período de desenvolvimento do projeto: Graziela Ribeiro da Cunha, pelas palavras de suporte e abraço e Francisco de Oliveira Conrado, pela amizade a distância e auxílio no inglês. Também aos colegas de pós-graduação e agora amigos Felipe Fornazari, Mariana G. Zanchetta, Giulia S. Latosinski, Simone T. Guerra e Rodrigo I. da Silva.

Aos professores do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública (FMVZ-UNESP), Márcio Garcia Ribeiro e José Carlos F. Pantoja pelo apoio e considerações ao trabalho na banca de qualificação.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo financiamento da bolsa de estudos que foi fundamental para que eu pudesse desenvolver o mestrado de forma exclusiva.

LISTA DE TABELAS

Table 1. Presence or absence of risk factors on census tract and occurrence of human leptospirosis cases in 2014 and 2015, in Cajuru neighborhood (Curitiba, Paraná, Brazil).....	30
Table 2. Presence or absence of risk factors on census tract and occurrence of <i>Leptospira</i> spp. kidneys' rats captured in Cajuru neighborhood (Curitiba, Paraná, Brazil).....	31

LISTA DE FIGURAS

Figure 1. It was presented.... selected in bibliography.....	29
--	----

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1.....	1
Introdução.....	1
Revisão de literatura.....	2
1. Leptospira e leptospirose.....	2
2. Vigilância Epidemiológica.....	5
3. Roedores na disseminação da leptospirose.....	6
4. Fatores de risco na transmissão da leptospirose urbana.....	7
5. Diagnóstico laboratorial da leptospirose.....	8
6. Análise espacial de risco.....	10
CAPÍTULO 2.....	12
Artigo científico.....	12
CAPÍTULO 3.....	32
Discussão geral.....	32
Conclusões gerais.....	33
Referências Bibliográficas.....	35
ANEXOS.....	41

Pellizzaro, M. Determinação de áreas de risco de leptospirose humana a partir do diagnóstico molecular em ratos (*Rattus norvegicus*). Botucatu, 2018. 55p.
Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

A leptospirose é a zoonose que mais acomete pessoas em todo o mundo. A infecção é causada pela bactéria *Leptospira* spp. e os ratos urbanos (*Rattus norvegicus*) são os principais reservatórios. Os principais fatores de risco são: chuvas, alagamentos, enchentes, presença de lixo, esgoto não canalizado, baixa infraestrutura e baixas condições socioeconômicas. O objetivo deste estudo foi determinar áreas de risco para vigilância da leptospirose humana, analisando a prevalência de *Leptospira* spp. em ratos e dados do ambiente. Utilizando informações contidas em bancos de dados oficiais e com base na literatura foram determinados os fatores de risco para leptospirose humana em Curitiba-PR. Foram determinados locais para captura dos ratos e coletados rins para análise molecular. A maioria dos setores foi classificado como de baixo risco de transmissão de leptospirose (17/112; 15,17%). Os fatores de risco mais frequentemente encontrados foram área inundável, esgoto a céu aberto e lixo acumulado. A chance dos setores com alto risco de transmissão foi 1,27 vezes maior que em setores de baixo risco. Foram capturados 25 ratos e a frequência de *Leptospira* spp. foi 17,39% e 68% em soro e rim, respectivamente. Os principais fatores de risco associados aos roedores foram ausências de abastecimento de água, rede ligada a esgoto, pavimentação e com reclamação de roedores. Este estudo reforça a importância da melhoria dos serviços de infraestrutura, diminuindo o contato das pessoas com a bactéria, bem como estratégias de manejo adequado para esses roedores.

Palavras chave: *Leptospira* spp., fatores de risco, rato de esgoto.

Pellizzaro, M. Risk areas determination for human leptospirosis by molecular diagnosis in rats (*Rattus norvegicus*). Botucatu, 2018. 55p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

Leptospirosis is the most common zoonosis in the world. Bacteria of the *Leptospira* spp. genus are the causative agents, and urban rats (*Rattus norvegicus*) are its main reservoir. Rain, flooding, garbage, absence of sanitary sewage, low socioeconomic and infrastructure conditions are the major risk factors human infection. This study aimed to define the risk areas for human leptospirosis, by analyzing *Leptospira* spp. prevalence in rats and environmental data. Official data information and literature were used to determine leptospirosis risk factors in Curitiba-PR. Rats were captured at previously determined sites. Kidney samples were collected and molecular tests were performed. Most of the census tracts were classified as low-risk to human leptospirosis (95/112; 84.82%). Risk factors associated with higher frequency of infection were flood area, open sewage, and accumulated garbage. The odds ratio in high-risk census tracts was 1.27 times higher than low-risk areas. Twenty-five rats were captured and the *Leptospira* spp. frequency was 17.39% and 68% in serum and kidney, respectively. The main risk factors associated with the presence of rodents were lack of adequate water supplies and sanitary sewage, unpaved streets, and rodent complaint. This study reinforces the importance of adequate infrastructure services in order to reduce human exposure to the bacteria, as well strategies of rodent control.

Key words: *Leptospira* spp., risk factors, Norway rats.

REFERENCES

1. Adler B. Current Topics in Microbiology and Immunology and Leptospirosis. Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Germany, 2015.
2. Ahmed, A, P. Grobusch, M. Molecular Approaches in the Detection and Characterization of *Leptospira*. *J Bacteriol Parasitol* 2012; 3. doi:10.4172/2155-9597.1000133.
3. Bharti AR, Nally JE, Ricaldi JN, Matthias MA, Diaz MM, Lovett MA et al. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *Lancet Infect Dis* 2003; 3: 757–771.
4. Reis RB, Ribeiro GS, Felzemburgh RDM, Santana FS, Mohr S, Melendez AXTO et al. Impact of environment and social gradient on *Leptospira* infection in urban slums. *PLoS Negl Trop Dis* 2008; 2: e228. DOI: 10.1371/journal.pntd.0000228.
5. Felzemburgh RDM, Ribeiro GS, Costa F, Reis RB, Hagan JE, Melendez AXTO et al. Prospective study of leptospirosis transmission in an urban slum community: role of poor environment in repeated exposures to the *Leptospira* agent. *PLoS Negl Trop Dis* 2014; 8: e2927. DOI: 10.1371/journal.pntd.0002927.
6. Costa F, Porter FH, Rodrigues G, Farias H, de Faria MT, Wunder EA, et al. Infections by *Leptospira interrogans*, Seoul virus, and *Bartonella* spp. among Norway rats (*Rattus norvegicus*) from the urban slum environment in Brazil. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2014; 14: 33–40. DOI: 10.1089/vbz.2013.1378.
7. BRASIL. Guia de Vigilância em Saúde. *Ministério da Saúde, Secretária de Vigilância em Saúde*. 2014; 1–812.
8. BRASIL. Manual de Controle de Roedores. *Ministério da Saúde*. 2002.
9. Costa F, Ribeiro GS, Felzemburgh RDM, Santos N, Reis RB, Santos AC et al. Influence of household rat infestation on leptospira transmission in the urban slum environment. *PLoS Negl Trop Dis* 2014; 8: e3338. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003338.

10. Costa F, Hagan JE, Calcagno J, Kane M, Torgerson P, Martinez-Silveira MS et al. Global Morbidity and Mortality of Leptospirosis: A Systematic Review. *PLoS Negl Trop Dis* 2015; 9: e0003898. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003898.
11. Mwachui MA, Crump L, Hartskeerl R, Zinsstag J. Environmental and Behavioural Determinants of Leptospirosis Transmission: A Systematic Review. *PLoS Negl Trop Dis* 2015; 9: 1–15. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003843.
12. Tassinari WS, Pellegrini DCP, Sá CBP, Reis RB, Ko AI, Carvalho MS. Detection and modelling of case clusters for urban leptospirosis. *Trop Med Int Heal* 2008; 13: 503–512. DOI: 10.1111/j.1365-3156.2008.02028.
13. Hagan JE, Moraga P, Costa F, Capián N, Ribeiro GS, Wunder EA et al. Spatiotemporal Determinants of Urban Leptospirosis Transmission: Four-Year Prospective Cohort Study of Slum Residents in Brazil. *PLoS Negl Trop Dis* 2016; 10: e0004275. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004275,
14. Levett PN. Leptospirosis. *Clin Microbiol* 2001; 14: 296–326.
15. Astúa D, Moura RT, Grelle CE V, Fonseca MT. Influence of baits, trap type and position for small mammal capture in a Brazilian lowland Atlantic Forest. *Bol do Mus Biológico Mello Leitão* 2006; 19: 31–44.
16. Mérien F, Amouriaux P, Perolat P, Baranton G, Saint Girons I. Polymerase chain reaction for detection of *Leptospira* spp. in clinical samples. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 2219–24.
17. Waggoner JJ, Pinsky BA. Molecular diagnostics for human leptospirosis. *Curr Opin Infect Dis* 2016; 29: 440–445. DOI: 10.1097/QCO.0000000000000295.
18. Gracie R, Barcellos C, Magalhães M, Souza-Santos R, Barrocas PRG. Geographical scale effects on the analysis of leptospirosis determinants. *Int J Environ Res Public Health* 2014; 11: 10366–83. DOI: 10.3390/ijerph111010366.
19. Maciel EAP, de Carvalho ALF, Nascimento SF, de Matos RB, Gouveia EL, Reis MG et al. Household transmission of leptospira infection in urban slum communities. *PLoS Negl Trop Dis* 2008; 2(1):e154. DOI: 10.1371/journal.pntd.0000154.

20. Santos SM, Chor D, Werneck GL. Demarcation of local neighborhoods to study relations between contextual factors and health. *Int J Health Geogr* 2010; 9:34. DOI: 10.1186/1476-072X-9-34.
21. Sarkar U, Nascimento SF, Barbosa R, Martins R, Nuevo H, Kalofonos I et al. Population-based case-control investigation of risk factors for leptospirosis during an urban epidemic. *Am J Trop Med Hyg* 2002; 66: 605–10.
22. Oliveira DSC, Guimarães MJB, Portugal JL, Medeiros Z. The socio-demographic, environmental and reservoir factors associated with leptospirosis in an urban area of north-eastern Brazil. *Ann Trop Med Parasitol* 2009; 103: 149–157. DOI: 10.1179/136485909X398221.
23. Tamayo Uria I, Mateu Mahiques J, Mughini Gras L. Temporal Distribution and Weather Correlates of Norway Rat (*Rattus norvegicus*) Infestations in the City of Madrid, Spain. *Ecohealth* 2013; 10: 137–144. DOI: 10.1007/s10393-013-0829-3.
24. de Faria MT, Calderwood MS, Athanzio DA, McBride AJA, Hartskeerl RA, Pereira MM et al. Carriage of *Leptospira interrogans* among domestic rats from an urban setting highly endemic for leptospirosis in Brazil. *Acta Trop* 2008; 108: 1–5. DOI: 10.1016/j.actatropica.2008.07.005.
25. Costa F, Wunder EA, De Oliveira D, Bisht V, Rodrigues G, Reis MG et al. Patterns in *Leptospira* Shedding in Norway Rats (*Rattus norvegicus*) from Brazilian Slum Communities at High Risk of Disease Transmission. *PLoS Negl Trop Dis* 2015; 9: e0003819. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003819
26. Krøjgaard LH, Villumsen S, Markussen MDK, Jensen JS, Leirs H, Heiberg A-C. High prevalence of *Leptospira* spp. in sewer rats (*Rattus norvegicus*). *Epidemiol Infect* 2009; 137: 1586–92. DOI: 10.1017/S0950268809002647.
27. Easterbrook JD, Kaplan JB, Vanasco NB, Reeves WK, Purcell RH, Kosoy MY et al. A survey of zoonotic pathogens carried by Norway rats in Baltimore, Maryland, USA. *Epidemiol Infect* 2007; 135: 1192–9.
28. Himsworth CG, Bidulka J, Parsons KL, Feng AYT, Tang P, Jardine CM et al. Ecology of *Leptospira interrogans* in Norway rats (*Rattus norvegicus*) in an

inner-city neighborhood of Vancouver, Canada. *PLoS Negl Trop Dis* 2013; 7: e2270. DOI: 10.1371/journal.pntd.0002270.

29. Pellizzaro M, Conrado F de O, Martins CM, Joaquim SF, Ferreira F, Langoni H et al. Serosurvey of *Leptospira* spp. and *Toxoplasma gondii* in rats captured from two zoos in Southern Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2017; 50: 857–860. DOI: 10.1590/0037-8682-0138-2017

30. Lau CL, Smythe LD, Craig SB, Weinstein P. Climate change, flooding, urbanisation and leptospirosis: fuelling the fire? *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2010; 104: 631–638. DOI: 10.1016/j.trstmh.2010.07.002.

Dada a heterogeneidade possível dentro de cada setor e que o dado utilizado foi presença ou ausência do fator de risco no setor inteiro, não é possível saber em quantos domicílios o fator estava presente, deste modo, as heterogeneidades individuais não puderam ser avaliadas. Outra questão é que o setor é uma grande unidade, e dentro dele pode haver variações significativas e considerar o setor inteiro como risco ou não risco, pode colocar uma parcela da população sob vigilância desnecessária. Esta é uma importante limitação pois um setor pode ser bastante heterogêneo.

A importância do ambiente nos arredores da residência, para transmissão de leptospirose em ambiente de favela, em países em desenvolvimento já foi descrita e os fatores de risco associados são determinantes na infecção humana (MACIEL et al., 2008).

CONCLUSÕES GERAIS

A leptospirose é uma zoonose negligenciada em grandes centros, que afeta grupos de risco, normalmente marginalizados e vivendo em condições sanitárias precárias. É um problema com efeitos na saúde animal, humana e ambiental, manejável com abordagens relacionados a saúde única (*One Health*). Determinar aonde a transmissão está ocorrendo em uma comunidade é essencial para criar e implementar intervenções efetivas nesses locais. Ainda é necessário aplicar e validar a metodologia descrita, em outras áreas. Porém, com a validação da classificação de risco por setor censitário em um bairro, possibilitará direcionar os trabalhos das prefeituras em locais pontuais e tornará o serviço de vigilância mais eficaz.

Apesar das limitações, esta é a primeira abordagem utilizando diferentes cenários de transmissão de leptospirose dentro de um mesmo bairro, diminuindo os erros relacionados a comparações entre áreas distintas. Foi demonstrado que neste bairro, dentro das áreas de risco, os principais fatores de risco, colocando a população em perigo de infecção são as áreas inundáveis, abastecimento de água, esgoto a céu aberto, domicílio ligado à rede de esgoto, pavimentação e reclamação da presença de roedores.

Estes fatores podem ser gerenciados para melhoria das condições de vida de populações que vivem em condições insalubres nas favelas e outras áreas de ocupação irregular ou inadequadas. Os investimentos públicos em melhorias de infraestrutura nesses locais podem ser direcionados a realocação de famílias que vivem em áreas de alagamento, sistema de esgotamento sanitário, abastecimento de água, drenagem de chuva, pavimentação das ruas, manejo de roedores e destinação adequada do lixo. No caso da comunidade estudada, legalizar os serviços de reciclagem, para que as pessoas trabalhem na separação do lixo de maneira adequada, prevenindo a infecção.

Outras análises são necessárias para melhor descrever o padrão de infecção neste bairro, assim como validar a divisão em áreas de risco alto e baixo, e deste modo implementar ações de prevenção efetivas para esta e outras grandes populações marginalizadas que vivem nas periferias e favelas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACEVEDO-GARCIA, D. Zip Code-Level Risk Factors for Tuberculosis: Neighborhood Environment and Residential Segregation in New Jersey, 1985-1992. **American Journal of Public Health**, v. 91, n. 5, p. 734–741, 2001.

ADLER, B. **Current Topics in Microbiology and Immunology and Leptospirosis**. Berlin, Germany: Springer Berlin Heidelberg, 2015.

ADLER, B.; MOCTEZUMA, A. Leptospira and Leptospirosis. **Veterinary microbiology**, v. 140, p. 287–296, 2010.

AHMED, A.; GROBUSCH, M.; KLATSER, P. R.; HARTSKEERL, R. A. Molecular Approaches in the Detection and Characterization of Leptospira. **Journal of Bacteriology & Parasitology**, v. 3, n. 2, 2012.

ARCGIS DESKTOP: 10.1. **Environmental Systems Research Institute** Redlands, CA, 2011. .

ASTÚA, D.; MOURA, R. T.; GRELE, C. E. V; FONSECA, M. T. Influence of Baits , Trap Type and Position for Small Mammal Capture in a Brazilian Lowland Atlantic Forest. **Boletim do Museu Biológico Mello Leitão**, v. 19, p. 31–44, 2006.

BARATA, R. C. B. Epidemiologia, Saúde Pública, Situação de Saúde e Condições de vida. In: **Condições de vida e situação de saúde**. São Paulo: ABRASCO - Associação Brasileira de Saúde Coletiva, 1997. p. 31–75.

BHARTI, A. R.; NALLY, J. E.; RICARDI, J. N.; MATTHIAS, M. A.; DIAZ, M. M.; LOVETT, M. A.; LEVETT, P. N.; GILMAN, R. H.; WILLIG, M. R.; GOTUZZO, E.; VINETZ, J. M. Reviews Leptospirosis: A Zoonotic Disease of Global Importance. **The Lancet**, v. 3, n. December, p. 757–771, 2003.

BRASIL. Lei Orgânica 8.080/1990 - Dispõe Sobre as Condições Para a Promoção, Proteção E Recuperação Da Saúde, a Organização E O Funcionamento Dos Serviços Correspondentes E Dá Outras Providências. **Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF**, 1990.

BRASIL. Manual de Controle de Roedores. **Ministério da Saúde**, p. 132, 2002.

BRASIL. **Abordagens Espaciais na Saúde Pública**. 1ª edição ed. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, 2006.

BRASIL. **Introdução a estatística espacial para a saúde pública**. 1ª edição ed. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, 2007.

BRASIL. Guia de Vigilância Em Saúde. **Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde**, p. 1–812, 2014.

BRASIL. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 10 aug. 2017.

COSTA, F. **Estudos Ecológicos sobre Reservatórios urbanos de de Leptospirose em Salvador [Tese de Doutorado]**. 2010. Fundação Oswaldo Cruz - Centro de Pesquisas Gonçalo Muniz, 2010.

COSTA, F.; HAGAN, J. E.; CALCAGNO, J.; KANE, M.; TORGERSON, P.; MARTINEZ-SILVEIRA, M. S.; STEIN, C.; ABELA-RIDDER, B.; KO, A. I. Global Morbidity and Mortality of Leptospirosis: A Systematic Review. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 9, p. 0–1, 2015a.

COSTA, F.; PORTER, F. H.; RODRIGUES, G.; FARIAS, H.; DE FARIA, M. T.; WUNDER, E. A.; OSIKOWICZ, L. M.; KOSOY, M. Y.; REIS, M. G.; KO, A. I.; CHILDS, J. E. Infections by *Leptospira Interrogans*, Seoul Virus, and *Bartonella* Spp. among Norway Rats (*Rattus Norvegicus*) from the Urban Slum Environment in Brazil. **Vector borne and zoonotic diseases**, v. 14, n. 1, p. 33–40, 2014a.

COSTA, F.; RIBEIRO, G. S.; FELZEMBURGH, R. D. M.; SANTOS, N.; REIS, R. B.; SANTOS, A. C.; FRAGA, D. B. M.; ARAUJO, W. N.; SANTANA, C.; CHILDS, J. E.; REIS, M. G.; KO, A. I. Influence of Household Rat Infestation on *Leptospira* Transmission in the Urban Slum Environment. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 12, 2014b.

COSTA, F.; WUNDER, E. A.; DE OLIVEIRA, D.; BISHT, V.; RODRIGUES, G.; REIS, M. G.; KO, A. I.; BEGON, M.; CHILDS, J. E. Patterns in *Leptospira* Shedding in Norway Rats (*Rattus Norvegicus*) from Brazilian Slum Communities at High Risk of Disease Transmission. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 6, p. 1–14, 2015b.

CURITIBA. **Instituto de Pesquisa e Planejamento Urbano de Curitiba**. Disponível em: <<http://www.ippuc.org.br>>. Acesso em: 10 aug. 2017.

EASTERBROOK, J. D.; KAPLAN, J. B.; VANASCO, N. B.; REEVES, W. K.; PURCELL, R. H.; KOSOY, M. Y.; GLASS, G. E.; WATSON, J.; KLEIN, S. L. A Survey of Zoonotic Pathogens Carried by Norway Rats in Baltimore, Maryland, USA. **Epidemiology and infection**, v. 135, n. 7, p. 1192–1199, 2007.

EVANGELISTA, K. V. .; COBURN, J. *Leptospira* as an Emerging Pathogen: A Review of Its Biology, Pathogenesis and Host Immune Responses. **Future Microbiology**, v. 5, n. 9, p. 1413–1425, 2010.

FARIA, M. T.; CALDERWOOD, M. S.; ATHANAZIO, D. A.; MCBRIDE, A. J. A.; HARTSKEERL, R. A.; PEREIRA, M. M.; KO, A. I.; REIS, M. G. Carriage of *Leptospira Interrogans* among Domestic Rats from an Urban Setting Highly Endemic for Leptospirosis in Brazil. **Acta Tropica**, v. 108, p. 1–5, 2008.

FELZEMBURGH, R. D. M.; RIBEIRO, G. S.; COSTA, F.; REIS, R. B.; HAGAN, J. E.; MELENDEZ, A. X. T. O.; FRAGA, D.; SANTANA, F. S.; MOHR, S.; DOS SANTOS, B. L.; SILVA, A. Q.; SANTOS, A. C.; RAVINES, R. R.; TASSINARI, W. S.; CARVALHO, M. S.; REIS, M. G.; KO, A. I. Prospective Study of Leptospirosis Transmission in an Urban Slum Community: Role of Poor Environment in Repeated Exposures to the *Leptospira* Agent. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 5, p. e2927, 2014.

GRACIE, R.; BARCELLOS, C.; MAGALHÃES, M.; SOUZA-SANTOS, R.; GUIMARÃES BARROCAS, P. R. Geographical Scale Effects on the Analysis of Leptospirosis Determinants. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 11, n. 10, p. 10366–10383, 2014.

HAGAN, J. E.; MORAGA, P.; COSTA, F.; CAPIAN, N.; RIBEIRO, G. S.; WUNDER, E. A.; FELZEMBURGH, R. D. M.; REIS, R. B.; NERY, N.; SANTANA, F. S.; FRAGA, D.; DOS SANTOS, B. L.; SANTOS, A. C.; QUEIROZ, A.; TASSINARI, W.; CARVALHO, M. S.; REIS, M. G.; DIGGLE, P. J.; KO, A. I. Spatiotemporal Determinants of Urban Leptospirosis Transmission: Four-Year Prospective Cohort Study of Slum Residents in Brazil. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 1, p. 1–16, 2016.

HIMSWORTH, C. G.; BIDULKA, J.; PARSONS, K. L.; FENG, A. Y. T.; TANG, P.; JARDINE, C. M.; KERR, T.; MAK, S.; ROBINSON, J.; PATRICK, D. M. Ecology of *Leptospira Interrogans* in Norway Rats (*Rattus Norvegicus*) in an Inner-City Neighborhood of Vancouver, Canada. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 7, n. 6, p. e2270, 2013a.

HIMSWORTH, C. G.; PARSONS, K. L.; JARDINE, C.; PATRICK, D. M. Rats, Cities, People, and Pathogens: A Systematic Review and Narrative Synthesis of Literature Regarding the Ecology of Rat-Associated Zoonoses in Urban Centers. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 13, n. 6, p. 349–359, 2013b.

KO, A. I.; REIS, M. G.; DOURADO, C. M. R.; JR, W. D. J.; RILEY, L. W. Urban Epidemic of Severe Leptospirosis in Brazil. v. 354, p. 820–825, 1999.

KRØJGAARD, L. H.; VILLUMSEN, S.; MARKUSSEN, M. D. K.; JENSEN, J. S.; LEIRS, H.; HEIBERG, a-C. High Prevalence of *Leptospira* Spp. in Sewer Rats (*Rattus Norvegicus*). **Epidemiology and infection**, v. 137, p. 1586–1592, 2009.

LAROCQUE, R. C.; BREIMAN, R. F.; ARI, M. D.; MOREY, R. E.; JANAN, F. A.; HAYES, J. M.; HOSSAIN, M. A.; BROOKS, W. A.; LEVETT, P. N. Leptospirosis during Dengue Outbreak, Bangladesh. **Emerging Infectious Diseases**, v. 11, n. 5, p. 766–769, May 2005.

LAU, C. L.; SMYTHE, L. D.; CRAIG, S. B.; WEINSTEIN, P. Climate Change, Flooding, Urbanisation and Leptospirosis: Fuelling the Fire? **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 104, n. 10, p. 631–638, 2010.

LEVETT, P. N. Leptospirosis. **Clinical Microbiology**, v. 14, n. 2, p. 296–326, 2001.

MACIEL, E. A. P.; CARVALHO, A. L. F.; NASCIMENTO, S. F.; MATOS, R. B.; GOUVEIA, E. L.; REIS, M. G.; KO, A. I. Household Transmission of *Leptospira* Infection in Urban Slum Communities. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 2, n. 1, 2008.

MARTINS, G.; LILENBAUM, W. The Panorama of Animal Leptospirosis in Rio de Janeiro, Brazil, Regarding the Seroepidemiology of the Infection in Tropical Regions. **BMC veterinary research**, v. 9, p. 237, 2013.

MCBRIDE, A. J. .; ATHANAZIO, D. A. .; REIS, M. G. .; KO, A. I. Leptospirosis. **Curr Opin Infect Dis**, v. 18, p. 376–386, 2005.

MERIEN, F.; AMOURIAUX, P.; PEROLAT, P.; BARANTON, G.; GIRONS, I. Saint. Polymerase Chain Reaction for Detection of *Leptospira* in Clinical Samples. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 30, n. 9, p. 2219–2224, 1992.

MWACHUI, M. A.; CRUMP, L.; HARTSKEERL, R.; ZINSSTAG, J.; HATTENDORF, J. Environmental and Behavioural Determinants of Leptospirosis Transmission: A Systematic Review. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 9, n. 9, p. e0003843, 2015.

OLIVEIRA, D. S. C.; GUIMARÃES, M. J. B.; PORTUGAL, J. L.; MEDEIROS, Z. The Socio–demographic, Environmental and Reservoir Factors Associated with Leptospirosis in an Urban Area of North–eastern Brazil. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 103, n. 2, p. 149–157, 2009.

PANTI-MAY, J. A.; CARVALHO-PEREIRA, T. S. A.; SERRANO, S.; PEDRA, G. G.; TAYLOR, J.; PERTILE, A. C.; MINTER, A.; AIRAM, V.; CARVALHO, M.; JÚNIOR, N. N.; RODRIGUES, G.; REIS, M. G.; KO, A. I.; CHILDS, J. E.; BEGON, M.; COSTA, F. A Two-Year Ecological Study of Norway Rats (*Rattus Norvegicus*) in a Brazilian Urban Slum. **PloS one**, v. 11, n. 3, p. e0152511, 2016.

PELLIZZARO, M.; CONRADO, F. de O.; MARTINS, C. M.; JOAQUIM, S. F.; FERREIRA, F.; LANGONI, H.; BIONDO, A. W. Serosurvey of *Toxoplasma Gondii* and *Leptospira* Spp. in Captured Rats from Two Zoos in Southern Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. no prelo, 2017.

PFEIFFER, D.; ROBINSON, T.; STEVENSON, M.; STEVENS, K. B.; ROGERS, D. J.; CLEMENTS, A. C. **Spatial Analysis in Epidemiology**. 1st. ed. [s.l.] Oxford, 2008.

PICARDEAU, M. Diagnosis and Epidemiology of Leptospirosis. **Medecine et Maladies Infectieuses**, v. 43, n. 1, p. 1–9, 2013.

REIS, R. B.; RIBEIRO, G. S.; FELZEMBURGH, R. D. M.; SANTANA, F. S.; MOHR, S.; MELENDEZ, A. X. T. O.; QUEIROZ, A.; SANTOS, A. C.; RAVINES, R. R.; TASSINARI, W. S.; CARVALHO, M. S.; REIS, M. G.; KO, A. I. Impact of Environment and Social Gradient on *Leptospira* Infection in Urban Slums. **PLoS**

Neglected Tropical Diseases, v. 2, n. 4, p. 11–18, 2008.

SANTOS, S. M.; CHOR, D.; WERNECK, G. Demarcation of Local Neighborhoods to Study Relations between Contextual Factors and Health. **International Journal of Health Geographics**, v. 9, n. 1, p. 34, 2010.

SARKAR, U.; NASCIMENTO, S.; BARBOSA, R.; FOR, M. C.-C. I. of R. F.; LEPTOSPIROSIS DURING AN URBAN EPIDEMICS, R.; NUEVO, H.; KALOFONOS, I. Population-Based Case-Control Investigation of Risk Factors for Leptospirosis during an Urban Epidemic. **American Journal Tropical Medicine and Hygiene**, v. 66, n. 5, p. 605–10, 2002.

SPSS INC. **SPSS Statistics for Windows, Version 17.0** Chicago, 2008. .

STIMSON, R. J. Spatial Aspects of Epidemiological Phenomena and of the Provision and Utilization of Health Care Services in Australia: A Review of Methodological Problems and Empirical Analysis. **Environmental and Planning A**, v. 12, p. 881–907, 1980.

TASSINARI, W. S.; PELLEGRINI, D. C. P.; SÁ, C. B. P.; REIS, R. B.; KO, A. I.; CARVALHO, M. S. Detection and Modelling of Case Clusters for Urban Leptospirosis. **Tropical Medicine and International Health**, v. 13, n. 4, p. 503–512, 2008.

TORGERSON, P. R.; HAGAN, J. E.; COSTA, F.; CALCAGNO, J.; KANE, M.; MARTINEZ-SILVEIRA, M. S.; GORIS, M. G. A.; STEIN, C.; KO, A. I.; ABELARIDDER, B. Global Burden of Leptospirosis: Estimated in Terms of Disability Adjusted Life Years. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 10, p. 1–14, 2015.

URIA, I. T.; MATEU MAHIQUES, J.; MUGHINI GRAS, L. Temporal Distribution and Weather Correlates of Norway Rat (*Rattus Norvegicus*) Infestations in the City of Madrid, Spain. **EcoHealth**, v. 10, n. 2, p. 137–144, 2013.

WAGGONER, J. J.; PINSKY, B. A. Molecular Diagnostics for Human Leptospirosis. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 29, n. 5, p. 440–445, 2016.

ANEXOS

Anexo I – Atestado de aprovação de projeto de pesquisa na CEUA.



ATESTADO

Atesto que o Projeto "Vigilância epidemiológica e determinação de áreas de risco de leptospirose humana a partir do diagnóstico molecular e sorológico de ratos urbanos (*Rattus norvegicus*)" **Protocolo CEUA 0034/2017**, a ser conduzido por Maysa Pelizzaro, responsável/orientador Helio Langoni, para fins de pesquisa científica/ensino - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA.

Finalidade	PESQUISA CIENTÍFICA
Vigência do projeto	15/03/2017 a 15/10/2017
Nome Comum / Espécie / Linhagem	RATO / RATTUS NOVERGICUS / Não se aplica
Raça	Não se aplica
Nº de animais machos	60
Nº de animais fêmeas	60
Nº de animais sexo indefinido	0
Peso médio de animais machos	300g
Peso médio de animais fêmeas	300g
Peso médio de animais sexo indefinido	0
Idade	0 ano(s) e 1 mes(es) e 0 dia(s).
Procedência	Animais sinantrópicos

Projeto de Pesquisa aprovado em reunião da CEUA em 09/03/2017

PROF. ASS. DR. IBIARA CORREIA DE LIMA ALMEIDA PAZ
Presidente da CEUA da FMVZ, UNESP - Campus de Botucatu

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Seção Técnica Acadêmica
Rua Prof. Dr. Walter Maurício Cordeiro, s/n
UNESP - Campus de Botucatu/SP - Cep 18618-681
(14) 3880-2176 - patricia@fmvz.unesp.br - www.fmvz.unesp.br

Anexo II – Autorização para realização do projeto de pesquisa pela Prefeitura de Curitiba.



PREFEITURA MUNICIPAL DE CURITIBA
SECRETARIA MUNICIPAL DA SAÚDE
CENTRO DE SAÚDE AMBIENTAL
UNIDADE DE VIGILÂNCIA DE ZOOSES

INFORMAÇÃO

A Prefeitura Municipal de Curitiba, em parceria com a Universidade Federal do Paraná e a Universidade Estadual Paulista, está promovendo um estudo de pesquisa de zoonoses em ratos urbanos, com o objetivo de avaliar a presença e sanidade de roedores sinantrópicos.

Suas ações envolvem captura dos roedores sinantrópicos com uso de armadilhas dispostas em áreas do bairro Cajuru, pelo período de no mínimo 12 horas, e elaboração de um questionário epidemiológico com a população.

A realização do presente estudo, foi autorizada pela Secretaria Municipal da Saúde.

Curitiba, 20 de janeiro de 2017.

Vivien Midori Morikawa
Coordenadora
Unidade de Vigilância de Zoonoses

Anexo III – Termo de consentimento para colocação de armadilhas nas residências dos moradores.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
PREFEITURA MUNICIPAL DE CURITIBA



Eu, _____
_____, RG: _____ estou sendo convidado a
participar de um estudo de pesquisa de zoonoses em ratos urbanos, cujos objetivos e justificativas são:
avaliar a presença e sanidade de roedores sinantrópicos.

A minha participação no referido estudo será no sentido de permitir que os pesquisadores envolvidos no referido projeto posicionem uma armadilha pra roedores nas dependências de seu domicílio ou comércio, durante um período de aproximadamente 12 horas.

Recebi, por outro lado, os esclarecimentos necessários sobre os possíveis desconfortos e riscos decorrentes do estudo, levando-se em conta que é uma pesquisa, e os resultados positivos ou negativos somente serão obtidos após a sua realização.

Estou ciente de que minha privacidade será respeitada, ou seja, meu nome ou qualquer outro dado ou elemento que possa, de qualquer forma, me identificar, será mantido em sigilo.

Também fui informado de que posso me recusar a participar do estudo, ou retirar meu consentimento a qualquer momento, sem precisar justificar.

As pesquisadoras envolvidas com o referido projeto são: Médica Veterinária Maysa Pellizzaro (41 99219-1251) e Ana Carolina Yamakawa (41 99878-9336) e com elas poderei manter contato pelos telefones supracitados.

Enfim, tendo sido orientado quanto ao teor de todo o aqui mencionado e compreendido a natureza e o objetivo do já referido estudo, manifesto meu livre consentimento em participar, estando totalmente ciente de que não há nenhum valor econômico, a receber ou a pagar, por minha participação.

Curitiba, ____ de _____ de 2017.

Assinatura

Maysa Pellizzaro

Assinatura da pesquisadora responsável