

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CÂMPUS DE ARAÇATUBA**

GRAZIELLA BORGES ALVES INÁCIO

**Epidemiologia da Leishmaniose Visceral Canina e
Distribuição do Vetor no Município de Araçatuba,
São Paulo, Brasil.**

ARAÇATUBA – SP
2019

GRAZIELLA BORGES ALVES INÁCIO

**Epidemiologia da Leishmaniose Visceral Canina e
Distribuição do Vetor no Município de Araçatuba,
São Paulo, Brasil.**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Ciência Animal (Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal).

Orientadora: Profa. Ass. Katia Denise Saraiva Bresciani.

Coorientadora: Dra. Lilian Aparecida Celebrusco Rodas.

ARAÇATUBA – SP

2019

I35e Inácio, Graziella Borges Alves
Epidemiologia da Leishmaniose Visceral Canina e Distribuição do Vetor no Município de Araçatuba, São Paulo, Brasil. / Graziella Borges Alves Inácio. -- Araçatuba, 2019
66 p. : il., tabs., mapas + 1 CD-ROM

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba
Orientadora: Katia Denise Saraiva Bresciani
Coorientadora: Lilian Aparecida Celebrusco Rodas

1. Leishmaniose. 2. Cães. 3. Flebotomíneos. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araçatuba

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: EPIDEMIOLOGIA DA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA E DISTRIBUIÇÃO DO VETOR NO
MUNICÍPIO DE ARAÇATUBA, SÃO PAULO, BRASIL

AUTORA: GRAZIELLA BORGES ALVES INACIO

ORIENTADORA: KATIA DENISE SARAIVA BRESCIANI

COORDINADORA: LILIAN APARECIDA COLEBRUSCO RODAS

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIÊNCIA ANIMAL, área: Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal pela Comissão Examinadora:


Profa. Dra. KATIA DENISE SARAIVA BRESCIANI

Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp


Dr. ALEX AKIRA NAKAMURA

Doutor em Medicina Veterinária pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia / USP


Profa. Dra. DANIELA BERNADETE ROZZA

Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp

Dra. ANAIÁ DA PAIXÃO SEVÁ

Doutora em Medicina Veterinária pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia / USP


Prof. Dr. JANCARLO FERREIRA GOMES

Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente / Faculdade de Ciências Médicas da Universidade de Campinas

Araçatuba, 21 de agosto de 2019.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araçatuba

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: EPIDEMIOLOGIA DA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA E DISTRIBUIÇÃO DO VETOR NO
MUNICÍPIO DE ARAÇATUBA, SÃO PAULO, BRASIL

AUTORA: GRAZIELLA BORGES ALVES INACIO

ORIENTADORA: KATIA DENISE SARAIVA BRESCIANI

COORDENADORA: LILIAN APARECIDA COLEBRUSCO RODAS

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIÊNCIA ANIMAL, área: Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. KATIA DENISE SARAIVA BRESCIANI

Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp

Dr. ALEX AKIRA NAKAMURA

Doutor em Medicina Veterinária pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia / USP

Profa. Dra. DANIELA BERNADETE ROZZA

Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp

Dra. ANAÍÁ DA PAIXÃO SEVA

Doutora em Medicina Veterinária pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia / USP

Prof. Dr. JANCARLO FERREIRA GOMES

Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente / Faculdade de Ciências Médicas da Universidade de Campinas

Araçatuba, 21 de agosto de 2019.

Á minha família pelo todo amor, por me apoiarem e incentivarem a prosseguir em
direção aos meus objetivos.

AGRADECIMENTOS

À Deus por todas as graças alcançadas, pelos obstáculos enfrentados e superados.

À minha querida orientadora Katia Denise Saraiva Bresciani, pelo apoio incondicional, pelas orientações nas minhas dúvidas e dilemas que foram surgindo durante a pesquisa, pelo meu crescimento científico, pela amizade, carinho e compreensão. Obrigada, pelo grande exemplo de pessoa e pesquisadora.

À minha coorientadora Lilian Aparecida Celebrusco Rodas pela amizade, paciência, parceria e orientação nas horas dos questionamentos que foram aparecendo durante a pesquisa.

Ao Dr. Jancarlo Ferreira Gomes pelo apoio e incentivo ao meu crescimento profissional e científico.

Aos meus pais, Gilmar e Onofra, por me incentivar a sempre buscar o conhecimento e ao meu crescimento profissional. Como eles sempre me disseram “o estudo e o conhecimento, ninguém tira de você”. Muito obrigada por tudo.

Ao meu marido, Fabio Inácio que sempre esteve ao meu lado, me apoiando e incentivando a prosseguir e nunca desistir dos meus objetivos.

À minha irmã, Daniella, e minhas queridas sobrinhas, Marina e Sarah, pelo apoio, amor e alegria que contagia o meu dia.

Aos meus queridos amigos médicos veterinários Alex A. Nakamura, Carolina Beatriz Baptista, Gisele Moraes dos Santos, Talita Carolina Bragança de Oliveira e Walter Bertequini Nagata pela amizade, apoio e colaboração ao desenvolvimento do meu projeto.

À minha amiga Sandra Valéria Inácio, pela amizade, pelos momentos de incentivo, apoio e principalmente pela parceria.

Às alunas de Iniciação Científica, Ana Carolina, Gabriely, Larianne e Nicole pela colaboração e o desenvolvimento do projeto.

Ao Laboratory of Image Data Science (LIDS), por me conceder as imagens dos flebotômíneos para o desenvolvimento do meu trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Parasitologia Veterinária, pela amizade, solidariedade e companheirismo no decorrer da minha jornada.

Aos Doutores que participaram do exame qualificação e da defesa, por munir-me das devidas correções e orientações para o aprimoramento do meu trabalho.

Às Professoras Anaiá P. Sevá, Cárís M. Nunes, Daniela B. Rozza e Tereza Cristina C. Silva, pela ajuda e apoio científico.

Aos professores da Pós-Graduação, que colaboraram com o meu crescimento profissional.

À Faculdade de Medicina Veterinária e a Pós-graduação pelo suporte técnico e acessibilidade.

Aos moradores que participaram e contribuíram para a realização da minha pesquisa.

Aos colaboradores Paulo Donizeti Bini, Débora Bigrato, William C. de Jesus, Luiz Dantas, Ney A. Soares, Jurandir S. Cordeiro, Neusa Fernandes Chierici, Letícia da Silva Santos, Wesley de Oliveira Alves, Keuryn Mira Luz Requena, Maria Stela B. Beaudoin, Lúcia de Fátima H. Ferreira, Rubens Antônio da Silva da Superintendência de Controle de Endemias de Araçatuba/SP, pelo apoio técnico e para o desenvolvimento da minha pesquisa.

Aos colaboradores Eliana Bravos Calemes, Roberto Mitsuyoshi Hiramoto, José Eduardo Tolezano, do Instituto Adolfo Lutz, Araçatuba/SP, pelo apoio técnico e para o desenvolvimento da minha pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento da bolsa de doutorado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento da bolsa de doutorado e da reserva técnica para o desenvolvimento do meu projeto (Processo do número 2017/24538-0).

"O saber a gente aprende com os mestres e os livros. A sabedoria se aprende é com a vida e com os humildes. Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina".

(Cora Coralina)

INÁCIO, G. B. A. **Epidemiologia da Leishmaniose Visceral Canina e Distribuição do Vetor no Município de Araçatuba, São Paulo, Brasil.** 2019. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2019.

RESUMO

A Leishmaniose Visceral (LV) apresenta uma ampla distribuição geográfica em todos os continentes, representando um sério problema de Saúde Pública. Os flebotomíneos (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) são importantes insetos vetores de microrganismos patogênicos como *Leishmania* spp., *Bartonella* spp. e arbovírus (*Vesiculovirus*, *Phlebovirus*, *Orbivirus*), porém, estes insetos apresentam grande importância para a transmissão das leishmanioses em várias regiões do mundo, incluindo as Américas do Sul e Central. No Brasil, há duas espécies, até o momento, relacionadas com a transmissão da *Leishmania infantum*: a *Lutzomyia longipalpis* e a *Lutzomyia cruzi*. Infecções por *Leishmania* spp. são potencialmente zoonóticas e acometem homens e diversas espécies de animais silvestres e domésticos. Os cães são importantes hospedeiros, fontes de infecções e potenciais reservatórios, não só pelo estreito relacionamento ou convívio com os seres humanos, mas também por sua incapacidade imunológica em responder à doença com sucesso. O Ministério da Saúde no Brasil, preconiza para o diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina (LVC), o teste imunocromatográfico, como exame de triagem e o ensaio imunoenzimático, como confirmatório. Também recomenda o diagnóstico precoce e tratamento adequado dos casos humanos, o controle dos vetores, a eutanásia dos cães e atividades de educação em saúde nas áreas endêmicas para esta doença. Por tanto, foram instituídas ações de prevenção e controle da LV canina, na área urbana do Município de Araçatuba, São Paulo, Brasil.

Palavras-chave: Leishmaniose. Cães. Flebotomíneos.

INÁCIO, G. B. A. **Epidemiology of Canine Visceral Leishmaniasis and Vector Distribution in Municipality of Araçatuba, São Paulo, Brazil.** 2019. Tese (Doutorado) -Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2019.

ABSTRACT

Visceral leishmaniasis (VL) has a wide geographical distribution on all continents, representing a serious Public Health problem. Sand flies (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) are important insect vectors of pathogenic microorganisms such as *Leishmania* spp., *Bartonella* spp. and arboviruses (*Vesiculovirus*, *Phlebovirus*, *Orbivirus*), however, these insects are of great importance for leishmaniasis transmission in various regions of the world, including South and Central America. In Brazil, there are two species related to the transmission of *Leishmania infantum*: *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia cruzi*. *Leishmania* spp. infections are potentially zoonotic and affect men and various species of wild and domestic animals. Dogs are important hosts, sources of infections and potential reservoirs, not only for their close relationship or contact with humans, but also for their immunological inability to successfully respond to the disease. The Health Ministry of Brazil recommends for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis (CVL), the immunochromatographic test as a screening test and the enzyme immunoassay as confirmatory. It also recommends early diagnosis and appropriate treatment of human cases, vector control, dog euthanasia and health education activities in endemic areas for this disease. Therefore, prevention and control actions of canine VL were instituted in the urban area of municipality of Araçatuba, São Paulo, Brazil.

Keywords: Leishmaniasis. Dogs. Sand flies.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ciclo biológico da <i>Leishmania</i> spp.	18
Figura 2 - Flebotomíneo da espécie <i>Lutzomyia longipalpis</i> (macho).	19
Figura 3 - Ciclo biológico de flebotomíneos do gênero <i>Lutzomyia</i> .	20
Figura 4 - Rota de expansão de <i>Lu. longipalpis</i> . Distribuição de <i>Lu. longipalpis</i> , nos municípios do Estado de São Paulo, de acordo com o primeiro relato, entre 1970 e junho de 2014.	22
Figura 5 - Armadilhas luminosas do tipo CDC, instaladas no intra (lado esquerdo) e peridomicílio (lado direito) das residências do estudo.	31
Figura 6 - Flebotomíneos da espécie <i>Lu. longipalpis</i> , representado pelo macho (lado esquerdo) e a fêmea alimentada de sangue (direita).	32
Figura 7 - Distribuição dos cães de acordo com seus status imunológicos e densidade Kernel de cães soropositivos para <i>Leishmania</i> spp. no município de Araçatuba, SP, Brasil.	35
Figura 8 - Distribuição dos cães de acordo com seus status imunológicos e mapa de Kernel de cães soronegativos para <i>Leishmania</i> spp. no município de Araçatuba, SP, Brasil.	36
Figura 9 - Distribuição de <i>Lu. longipalpis</i> por quebra natural dos dados nas oitos áreas no município de Araçatuba, São Paulo, Brasil.	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Cães reagentes e não reagentes pelo DPP e ELISA para *Leishmania* spp. de acordo com as variáveis do estudo. 37

LISTA DE ABREVIATURAS

LV – Leishmaniose Visceral

LVH - Leishmaniose Visceral Humana

LVC - Leishmaniose Visceral Canina

OIE - World Organisation for Animal Health

Lu. - *Lutzomyia*

DPP – Dual Path Platform

rK39 – “proteínas recombinantes”

ELISA - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

L. - *Leishmania*

PCR – Polymerase Chain Reaction

qPCR – Polymerase Chain Reaction Real-Time

DNA - Ácido desoxirribonucleico

PVCLV - Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral

SUCEN - Superintendência de Controle de Endemias de Araçatuba, SP - SR-09

DPVCD - Divisão do Programa de Vigilância e Controle da Dengue

SRD - Sem Raça Definida

EDTA - Ethylenediamine Tetraacetic Acid

g – força da gravidade

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	15
1.1 Leishmaniose Visceral Humana.....	15
1.2 Leishmaniose Visceral Canina.....	16
1.3 Ciclo Biológico.....	17
1.4 Vetor.....	18
1.5 Diagnósticos para a Leishmaniose Visceral Canina.....	22
1.5.1 Sorológico.....	22
1.5.2 Parasitológico.....	23
1.5.3 Molecular.....	23
1.6 Medidas de Controle para Leishmaniose Visceral Canina.....	24
1.6.1 Eutanásia dos Cães Coropositivos.....	24
1.6.2 Controle dos Flebotomíneos.....	24
1.6.3 Atividades de Educação em Saúde.....	25
1.7 Objetivo.....	25
2 CAPÍTULO 1 - DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DE <i>Leishmania</i> spp. EM CÃES DA ZONA URBANA DE ARAÇATUBA, SÃO PAULO, BRASIL.....	26
2.1 Resumo.....	26
2.2 Abstract.....	27
2.3 Introdução.....	28
2.4 Material e Métodos.....	29
2.4.1 Período e Área do Estudo.....	29
2.4.2 Seleção das Casas.....	29
2.4.3 Delineamento Experimental.....	30
2.4.3.1 Cálculo amostral.....	30
2.4.3.2 População do estudo.....	30
2.4.3.3 Coleta de material.....	30
2.4.3.4 Coletas de flebotomíneos.....	30
2.4.3.5 Ficha de investigação e observação ambiental.....	32
2.4.4 Exames Laboratoriais.....	32
2.4.5 Estatística.....	33
2.4.5.1 Análise de Kernel.....	33
2.4.5.2 Cluster local.....	33
2.4.5.3 Densidade do vetor.....	34
2.4.6. Comitê de ética.....	34
2.5 Resultados.....	34
2.6 Discussão.....	39
2.7 Conclusão.....	42
2.8 Referências.....	42
APÊNDICE A - "Referências da Introdução Geral.....	48
ANEXOS.....	56

1 INTRODUÇÃO GERAL

1.1 Leishmaniose Visceral Humana (LVH)

Os protozoários causadores da LV pertencem à ordem Kinetoplastidae, família Trypanosomatidae e gênero *Leishmania* (SHAW, 2006). Esta doença apresenta amplo espectro epidemiológico no mundo, ocorrendo em vastas áreas tropicais e subtropicais (PASSOS et al., 1993), podendo ser transmitida entre humanos, ou de animais para homens ou vice-versa, por meio da picada da fêmea do flebotomíneo infectado, mantendo assim ciclo de transmissão do parasito (DESJEUX, 1996)

A crescente urbanização da LVH é decorrente de alterações ambientais antrópicas, como migração rápida da população rural para a periferia urbana, caracterizada pela existência de habitações inadequadas e infraestrutura precária de saneamento básico (SILVA et al., 1997; TAUIL, 2006). Neste contexto, se promove a interação simultânea de reservatórios silvestres e cães infectados em áreas sem transmissão desta protozoose (TAUIL, 2006), bem como a rápida adaptação do flebotomíneo vetor (BRAZIL, 2013), ao peridomicílio (DIAS et al., 2003).

Uma ampla distribuição geográfica ocorre principalmente em pessoas de menor poder aquisitivo em regiões da África, Ásia e América Latina e está associada a desnutrição, deslocamento da população, condições precárias de habitação, sistema imunológico e ao fator socioeconômico (ALVAR et al., 2012), sendo que mais de 98 países são endêmicos para esta doença (WHO, 2015).

Entre o período de 1980 a 2005, no Brasil foram notificados 59.129 novos casos da doença, com média anual de 2.274 casos. Destes, 82,5% (48.783) foram registrados na região Nordeste. A LV gradualmente se difundiu para o Centro-Oeste, Norte e Sudeste, com dados de ocorrência de 15% em 1998, com elevação para 44% em 2005 (MAIA-ELKHOURY, 2008), com disseminação na região Sul (BIANCHI et al., 2016).

No Estado de São Paulo tem ocorrido uma expansão da LVH, sendo que de 1999 até 2016, 14,26% (92/645) dos municípios apresentaram casos humanos autóctones (SÃO PAULO, 2019a). O surgimento e a dispersão desta zoonose no estado estão associados aos comportamentos antropogênicos e climáticos, migrando no sentido noroeste a sudeste (SEVÁ et al., 2017). De 2014 até abril de 2019, em São

Paulo, foram notificados 642 casos em humanos e 55 óbitos, sendo que no município de Araçatuba foram registrados 42 casos e três óbitos da doença, caracterizando-se como uma área endêmica (SÃO PAULO, 2019b).

1.2 Leishmaniose Visceral Canina (LVC)

Os cães são epidemiologicamente importantes na transmissão da LVC, não só pelo estreito relacionamento ou convívio com os homens, mas também por sua incapacidade imunológica em responder à doença com sucesso, sendo que somente em torno de 15% dos cães infectados se curam espontaneamente (FISA et al., 1999). A infecção em cães pode ser subclínica, como também a doença pode ser autolimitante, sendo que mais comumente se manifesta na forma grave e muitas vezes, fatal (SOLANO-GALLEGO et al., 2009).

A doença nesta espécie animal, pode ser assintomática ou apresentar diversas manifestações clínicas, como, dermatopatias localizadas, emagrecimento acentuado e até linfadenomegalia generalizada (OTRANTO; DANTAS-TORRES, 2013).

Estas manifestações clínicas são devido aos variados tipos de resposta imune, porém o mecanismo patogênico permanece o mesmo. As lesões são uma decorrência de uma reação inflamatória contra o parasito, que pode acontecer na pele, órgãos viscerais como: fígado, rins ou intestino, olhos, ossos e mucosas. As lesões cutâneas são as principais reclamações ou queixas dos tutores, dentre este são dermatite esfoliativa não prurídica com ou sem alopecia, dermatite erosiva-ulcerativa, dermatite nodular, pústula, anemia e emagrecimento (SOLANO-GALLEGO et al., 2011).

A LVC tem sua natureza zoonótica de importância na Saúde Pública, sendo que a prevenção desta infecção torna-se uma obrigação tanto para a saúde do cão quanto da saúde humana (OTRANTO; DANTAS-TORRES, 2013). Esta enfermidade é reconhecida pela World Organisation for Animal Health (OIE) como uma importante doença, que está presente em quatro continentes, é endêmica em mais de 70 países, com acometimento em quase 2,5 milhões de cães (KASZAK et al., 2015).

No Brasil, uma das medidas adotadas para o controle da propagação da LVC em áreas endêmicas, é a eutanásia de cães soropositivos (GRIMALDI JUNIOR

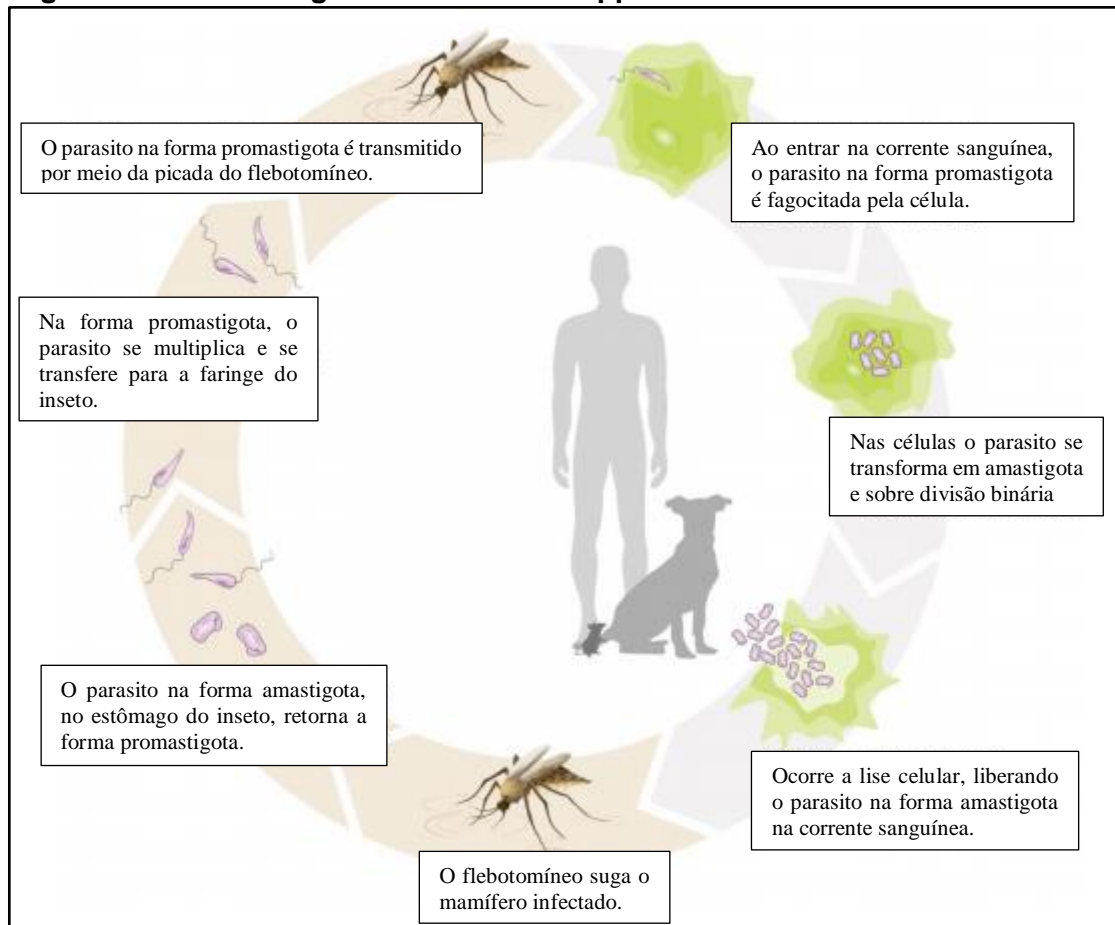
et al., 2012). Sendo que, tal medida não tem anuência dos seus tutores (COSTA, 2011).

1.3 Ciclo Biológico

Para completar o ciclo de vida, a *Leishmania* spp. precisa de dois hospedeiros: um flebotomíneo vetor e um hospedeiro mamífero (por exemplo, o cão). Este parasito apresenta duas formas: amastigota e promastigota (DANTAS-TORRES, 2007).

O protozoário *Leishmania* spp. ao entrar na corrente sanguínea, na forma promastigota é fagocitado pelo macrófago, onde se transforma em amastigota e sofre divisão binária, com lise celular e liberação a *Leishmania* spp. na forma amastigota na corrente sanguínea. A fêmea do flebotomíneo ao picar o mamífero infectado, ingere o parasito na forma amastigota, no seu estômago, retorna a forma promastigota. Esta forma se multiplica e migra para a faringe deste inseto, que ao picar um novo hospedeiro transmite promastigota referida forma evolutiva infectante (Figura 1), com perpetuação do ciclo evolutivo (BLANCO; NASCIMENTO-JÚNIOR, 2017).

Figura 1 – Ciclo biológico da *Leishmania* spp.



Fonte: BLANCO; NASCIMENTO-JÚNIOR, 2017.

1.4 Vetor

Os flebotomíneos (Ordem: Diptera, Família: Psychodidae, Subfamília: Phlebotominae) são importantes vetores de microrganismos patogênicos como *Leishmania* spp. (ALVAR et al., 2012), *Bartonella* spp. e arbovírus (*Vesiculovirus*, *Phlebovirus*, *Orbivirus*) (ALTEN et al., 2015), porém, estes insetos apresentam grande importância para a transmissão das leishmanioses em várias regiões do mundo, incluindo as Américas, Central e Sul (ALVAR et al., 2012).

Estes insetos são conhecidos por suas características singulares, como seu pequeno tamanho (2 a 3 mm), corpo revestido por numerosas escamas e cerdas, com intensa pilosidade, pernas longas e delgadas, coloração palha, asas elevadas quando em repouso e voo saltitante (Figura 2). Importante evidenciar que são insetos holometábolos, com ciclo vital: ovo, larva (compreendendo quatro estágios), pupa e

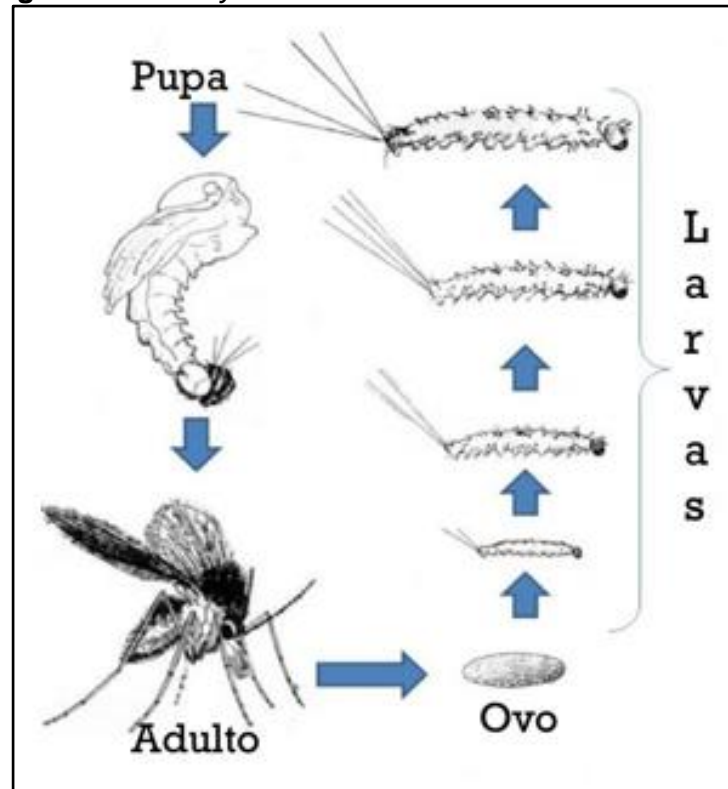
adulto (Figura 3), sendo que as fêmeas necessitam de sangue para a produção de ovos (BRAZIL; BRAZIL, 2003).

Figura 2 – Flebotomíneo da espécie *Lutzomyia longipalpis* (macho).



Fonte: Cortesia de imagem do Laboratory of Image Data Science (LIDS). Instituto de Computação da UNICAMP.

Figura 3 – Ciclo biológico de flebotomíneos do gênero *Lutzomyia*.



Fonte: Elaborado pelo autor.

As fêmeas são atraídas pelos hospedeiros por meio da temperatura e o odor corporais, sendo ecléticos em relação à sua preferência alimentar (BRAZIL; BRAZIL, 2003), geralmente se alimentam ao crepúsculo ou a noite e durante o dia permanecem em seus abrigos (BRAZIL; RODRIGUES; ANDRADE FILHO, 2015). As formas imaturas desenvolvem-se em locais relativamente úmidos e ricos em matéria orgânica em decomposição com pouca luminosidade, onde se protegem das rigorosas mudanças climáticas (AGUIAR; MEDEIROS, 2003).

Atualmente, existem aproximadamente 1.000 espécies de flebotomíneos descritos no mundo, sendo que cerca de 530 são encontradas na região Neotropical, e destas, aproximadamente 20 são comprovadamente veiculadoras da leishmaniose do Novo Mundo (GALATI, 2003).

A espécie, *Lu. Longipalpis* tem caráter oportunista, comportamento antropofílico e hábito alimentar eclético, características estas que favorecem a transmissão de patógenos, como a *L. infantum*. Este vetor apresenta um alto grau de adaptação em ambientes modificados, sendo encontrado tanto no intradomicílio quanto no peridomicílio (LAINSON; RANGEL, 2005). Já foi detectado em todas as

regiões do Brasil, ocorrendo em áreas urbanas e/ou rurais (BRASIL, 2006), procurando fonte de alimento mais próximo ao seu criadouro (MISSAWA et al., 2008) e comumente associada com abrigos de animais domésticos (ALVES et al., 2012),

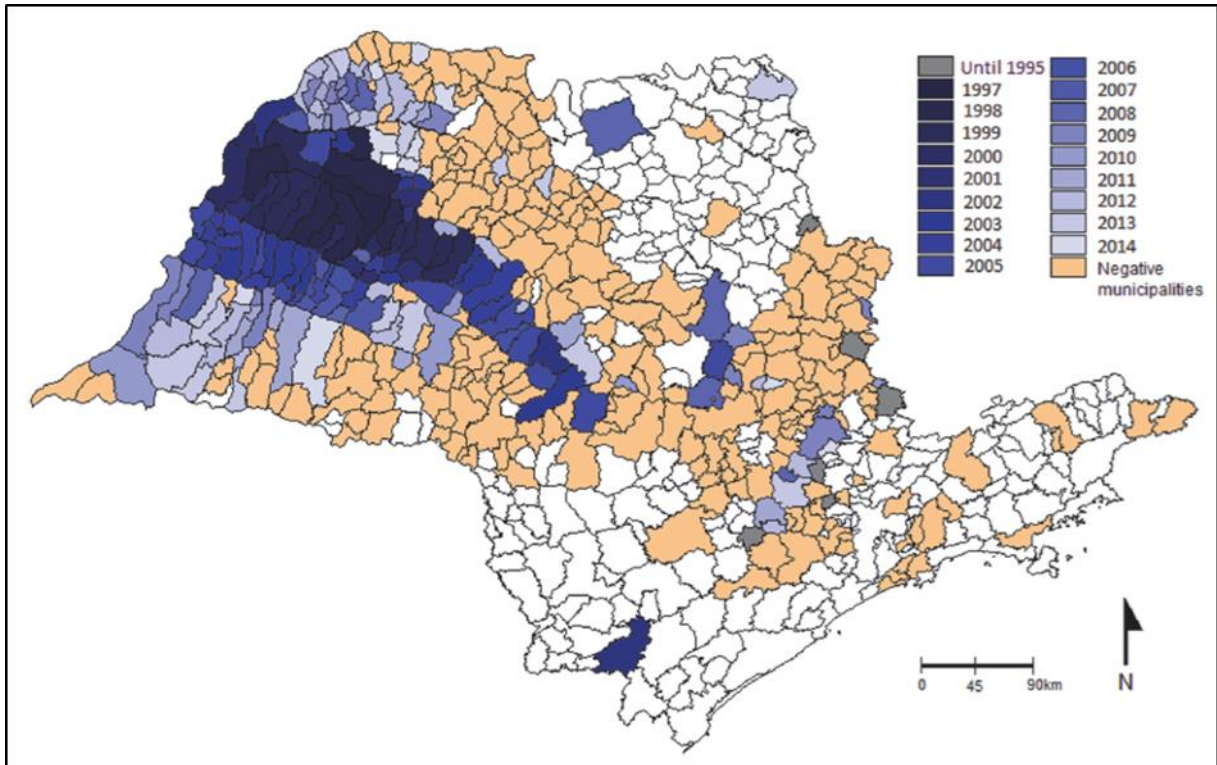
Na década de 1970, foi registrada a primeira ocorrência do vetor desta parasitose, *Lutzomyia longipalpis*, na Serra da Mantiqueira, região leste do Estado de São Paulo (FORATTINI et al., 1970). Posteriormente, em 1997, no município de Araçatuba, região Oeste do Estado foi relatada a presença deste flebotomíneo (COSTA et al., 1997). Neste mesmo Estado, um total de 14 gêneros foram registrados, com 69 espécies de flebotomíneos, por meio de check list dos exemplares catalogadas até o momento (SHIMABUKURO; GALATI, 2011).

No Brasil, há duas espécies, até o momento, relacionadas com a transmissão da *Leishmania infantum*: a *Lutzomyia longipalpis* (GALATI et al., 1997) e a *Lutzomyia cruzi* (OLIVEIRA et al., 2017). Recentemente, *Pintomyia fischeri* foi incriminada como um potencial vetor da leishmaniose visceral no estado de São Paulo (GALVIS-OVALLOS et al., 2017).

Entre 1998 a 2014, este flebotomíneo foi notificado em outros 164 municípios (Figura 4), esta é a maior expansão territorial deste vetor, em áreas urbanas no Estado de São Paulo (CASANOVA et. al., 2015).

No entanto, *Leishmania* spp. também foi detectado em pulgas (COLOMBO et al., 2011) e carrapatos (VIOL et al., 2016) coletados de cães infectados. Por tanto, o papel do carrapato da espécie *Rhipicephalus sanguineus* na transmissão não foi estabelecido, apesar de vários relatos apresentarem a detecção de DNA deste parasito neste ectoparasito (SOLANO-GALLEGO et al. 2012).

Figura 4 - Rota de expansão de *Lu. longipalpis*. Distribuição de *Lu. longipalpis*, nos municípios do estado de São Paulo, de acordo com o primeiro relato, entre 1970 e junho de 2014.



Fonte: CASANOVA et al., 2015

1.5 Diagnósticos para a Leishmaniose Visceral Canina

1.5.1 Sorológico

No Brasil, onde LVC representam sério problema de saúde pública, o diagnóstico em cães é de grande importância, pois uma das medidas preconizadas para controlar a propagação desta doença, consiste na eutanásia dos cães sororeagentes.

Para isso, o Ministério da Saúde preconiza o uso do Dual Path Platform (DDP®) como teste de triagem (BRASIL, 2011), onde emprega a proteína recombinante K39 (rK39) como antígeno, com uma sequência de 39 aminoácidos clonada da região quinase específica de *L. chagasi*, o qual tem sido estudada no diagnóstico da LVC (BURNS JUNIOR et al., 1993). Para confirmar os resultados positivos do DPP, preconiza-se o Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) com antígenos solúveis *Leishmania major*-like, ambos fabricados pela empresa Bio-Manguinhos (Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil) (BRASIL, 2011).

1.5.2 Parasitológico

O método parasitológico consiste na observação direta de formas amastigotas, por meio do esfregaço de linfonodo e medula óssea obtendo assim, prova definitiva da infecção (CRMV, 2015).

Neste exame o grau de parasitemia é muito variável, não tendo correlação com a sintomatologia dos animais (PALTRINIERI et al., 2010), por isso, na fase inicial da doença é difícil detectar os parasitos, podendo ocorrer resultados negativos. Desse modo, este diagnóstico apresenta alta especificidade, mas a sua sensibilidade é baixa (FAYET, 1999).

1.5.3 Molecular

A polymerase chain reaction (PCR) baseia-se na amplificação *in vitro* de sequências de nucleotídeos específicos presentes no parasito, sendo um método bastante sensível e específico para detectar DNA de *Leishmania* spp em ampla variedade de amostras clínicas de reservatórios e vetores (GOMES et al., 2008).

O método molecular de polymerase chain reaction real-time (qPCR) amplifica as sequências de DNA do parasito, sendo uma técnica utilizada para confirmar o diagnóstico da *Leishmania* spp. (MARTÍNEZ et. al., 2011).

Contudo, estudos têm demonstrado resultados favoráveis com amostras de pele, conjuntiva, medula óssea e aspirados de linfonodos, no entanto, menor sensibilidade e especificidade em sangue periférico, isso pode ser devido ao número de parasitos presentes neste material (FERREIRA et al., 2008).

No entanto, o swab conjuntival associado com a PCR tem apresentado elevada sensibilidade diagnóstica em cães naturalmente infectados com o protozoário (GEISWEID, 2013). Por meio da PCR, este material obteve resultados promissores (LOMBARDO et al., 2012), o que foi confirmado recentemente (LOPES et al., 2017).

1.6 Medidas de Controle para Leishmaniose Visceral Canina

As medidas recomendadas pelo Ministério da Saúde no Brasil são controle do reservatório canino, do vetor e atividades de educação em saúde nas áreas endêmicas para esta doença.

1.6.1 Eutanásia dos Cães Soropositivos

A principal recomendação para o controle da LVC, é a eutanásia (BRASIL, 2014). No entanto, a mesma não tem aprovação da população, devido à importância dos cães para seus tutores (COSTA, 2011). Por isso, parte da comunidade científica que estuda o assunto tem discutido a eficácia da referida medida (OTRANTO; DANTAS-TORRES, 2013).

Em algumas pesquisas, existe a concordância de que eutanasiar cães não minimiza a prevalência desta doença em áreas endêmicas (MACHADO et al., 2016). Com isso, é necessário suprir esta medida preventiva, por outras mais adequadas, como por exemplo uso de coleiras impregnadas com inseticidas piretróides (ROMERO, 2016; SEVÁ et al., 2016) e as vacinas (SILVA et al., 2017).

1.6.2 Controle dos Flebotomíneos

O manejo ambiental seguido da pulverização de inseticida é uma estratégia de controle para os vetores da *Leishmania* spp. sendo utilizados os piretróides sintéticos (cipermetrina e deltametrina) (BRASIL, 2014).

O inseticida de ação residual indicado pelo O Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (PVCLV) para municípios com transmissão humana e canina, é borrifado deltametrina em toda a extensão das paredes do intradomicílio e peridomicílio das residências (von ZUBEN; DONALÍSIO, 2016). Na aplicação do PVCLV, profissionais de saúde de órgãos governamentais enfrentam consideráveis desafios, como: recusas dos moradores em não deixar borrifar o intra e peridomicílio, casas fechadas e terrenos baldios (ALVES; BRESCIANI; RODAS, 2017).

Alternativas de intervenções, são por exemplo, o uso de feromônio sexual sintético ((S) -9-methylgermacrene-B) de *Lu. longipalpis* e o inseticida (Lambda-

cialotrina), em casas com presença de galinheiros em uma área endêmica para LVH e LVC. Esses componentes juntos tem a capacidade de atrair e eliminar este vetor, evitando assim, que as fêmeas procurem outros hospedeiros para se alimentar e podendo completar o ciclo de infecção desta doença (BRAY et al., 2010). Esta associação supramencionada pode ser empregada no controle de flebotomíneos por um longo período de tempo, e conseqüentemente na prevenção desta enfermidade (BRAY et al., 2014).

1.6.3 Atividades de Educação em Saúde

A educação em saúde deveria estar implantada em todos os serviços públicos que desenvolvem as ações de controle da LV, promovendo assim um envolvimento eficaz de equipes multidisciplinares visando um só objetivo na sua comunidade (BRASIL, 2014).

Assim, os atos de educação em saúde têm que apresentar um caráter informativo que visa esclarecer sobre as formas de prevenção e controle da doença, instigando a posse responsável de animais e medidas de manejo ambiental (von ZUBEN; DONALÍSIO, 2016). Entretanto, a população demonstra dúvidas e dificuldades em diferenciar a LV da dengue, uma doença também muito presente no cotidiano dos moradores, porém com diferenças específicas, tanto em relação ao seu vetor como em sua prevenção (CARMO et. al., 2016). Por isso, há uma importância da conscientização da população no que concerne a medidas de controle bem como as diferenças entre estas doenças emergentes.

1.7 Objetivo

Neste estudo o objetivo foi instituir ações de prevenção e controle da leishmaniose visceral canina, na área urbana do Município de Araçatuba, São Paulo, Brasil.

2 CAPÍTULO 1 - DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DE *Leishmania* spp. EM CÃES DA ZONA URBANA DE ARAÇATUBA, SÃO PAULO, BRASIL.

2.1 Resumo

A Leishmaniose Visceral (LV) é uma doença de grande importância epidemiológica mundial. Esta parasitose é transmitida aos seres humanos, animais silvestres e domésticos pelas fêmeas dos flebotomíneos vetores. Para tanto, este estudo foi realizado com objetivo de investigar a distribuição espacial de cães infectados por *Leishmania* spp. por meio dos testes sorológicos, bem como, comparar com a densidade vetorial na região urbana de Araçatuba, SP, Brasil. Um total de 131 cães domiciliados foram examinados sorologicamente, por meio do Dual Path Platform (DPP) e do Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) para o diagnóstico de *Leishmania* spp. Informações sobre o ambiente peridomiciliar foram registradas nas fichas de investigação. Também, as coletas entomológicas foram realizadas no mês de março de 2018. Por meio do DPP, em 27 (20,61%) caninos foram detectados anticorpos para este protozoário, com confirmação sorológica em 11 (40,74%) por meio do ELISA. Os cães sororeagentes foram encontrados principalmente na região norte, sendo que, nenhum foi encontrado no centro do município. A densidade de vetores por área não apresentou relação com a presença destes cães. Esta pesquisa foi realizada em Araçatuba, SP, região endêmica para *Leishmania* spp. e poderá contribuir com a vigilância epidemiológica, pela investigação diagnóstica em caninos, bem como as densidades dos flebotomíneos. A análise espacial com uso dos testes recomendados pelo Ministério da Saúde para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina foi realizada pela primeira vez na região urbana de Araçatuba, SP.

Palavras-chave: Flebotomíneos. Leishmaniose visceral canina. Sorologia.

2 CHAPTER 1 - SPATIAL DISTRIBUTION OF *Leishmania* spp. IN DOGS OF URBAN AREA OF ARAÇATUBA, SÃO PAULO, BRAZIL.

2.2 Abstract

Visceral Leishmaniasis (VL) is a disease of great worldwide epidemiological importance. This parasitosis is transmitted to humans, wild and domestic animals by females of the sand flies. Therefore, this study was performed with the objective to investigate the spatial distribution of dogs infected with *Leishmania* spp. through serological tests, as well, compare with vector density in the urban region of Araçatuba, SP, Brazil. A total of 131 domiciled dogs were serologically examined by the Dual Path Platform (DPP) and the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) for the diagnosis of *Leishmania* spp. Information about the peridomestic environment was recorded in the investigation forms. Also, entomological collections were performed in March 2018. Through DPP, in 27 (20.61%) canines were detected antibodies to this protozoan, with 11 (40.74%) serological confirmation by ELISA. Seroreagent dogs were found mainly in the northern region, and none were found in the city center. Seroreactive dogs were found mainly in the northern region, and none were found in the city center. The vector density per area was not related to the presence of these dogs. This research was conducted in Araçatuba, SP, endemic region for *Leishmania* spp. and may contribute to epidemiological surveillance, diagnostic investigation in canines, as well as sand flies densities. Spatial analysis using the tests recommended by the Ministry of Health for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis was performed for the first time in the urban region of Araçatuba, SP.

Keywords: Sand flies. Canine visceral leishmaniasis. Serology.

2.3 Introdução

A Leishmaniose Visceral (LV) é uma doença zoonótica ocasionada pelo protozoário *Leishmania infantum* (sin. *Leishmania chagasi*) no Brasil (LAINSON; RANGEL, 2005). Este é transmitido por fêmeas dos flebotomíneos (BRAZIL et al., 2015), *Lutzomyia longipalpis* (GALATI et al., 1997), *Lu. cruzi* (OLIVEIRA et al., 2017) e possivelmente pela *Pintomyia fischeri*, que foi incriminada como potencial vetora no Estado de São Paulo (GALVIS-OVALLOS et al., 2017). Anualmente são estimados cerca de 50.000 a 90.000 novos casos de leishmaniose visceral humana (LVH), sendo o Brasil, um dos dez países que apresentam maior prevalência da referida enfermidade (WHO, 2019).

No Estado de São Paulo, o *Lu. longipalpis* foi detectado pela primeira vez na cidade de Araçatuba, SP, em 1997 (CAMARGO-NEVES et al., 2003). No mesmo município, nos anos de 1998 e 1999, foram notificados respectivamente, casos autóctones de leishmaniose visceral canina (LVC) (COSTA et al., 1997) e humana (CAMARGO-NEVES et al., 2001).

Desde então, tem ocorrido uma expansão da LVH no Estado de São Paulo, sendo que até 2016 em 14,26% (92/645) dos municípios houve casos humanos autóctones (SÃO PAULO, 2019a). O surgimento e a dispersão desta zoonose estão associados aos comportamentos antropogênicos e climáticos, migrando no sentido noroeste a sudeste do estado (SEVÁ et al., 2017). De 2014 até abril de 2019, em São Paulo, foram notificados 642 casos em humanos e 55 óbitos, sendo que em Araçatuba foram registrados 42 casos e três óbitos da doença (SÃO PAULO, 2019b).

O cão doméstico é visto como um importante reservatório de *L. infantum* no Brasil (ALVAR et al., 2006). Importante notar, que há relatos de que a presença do vetor, aumenta a prevalência da doença canina e aumenta a possibilidade de infecção humana (CAMARGO-NEVES et al., 2001; DI LORENZO; PROIETTI, 2002). Por este motivo, o cão é alvo de programa de controle em alguns países, como no Brasil (DANTAS-TORRES et al., 2012). Em 2018, foram registrados 574 casos de LVC do município de Araçatuba (dados do Centro Municipal de Controle de Zoonoses de Araçatuba, SP, não publicados), por meio do inquérito canino, no entanto não foi realizado em todo município.

A partir do Decreto Nº 51.838, de 14 de março de 1963, a lei de eutanásia de cães soropositivos tornou-se Nacional, bem como o diagnóstico da LVC como medida de prevenção e controle (DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO, 1963)

A partir de 2012, o Ministério da Saúde (MS) preconizou o protocolo com o uso do Dual Path Platform (DPP), como exame de triagem, e o Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) como confirmatório (BRASIL, 2011).

O quadro epidemiológico desta parasitose envolve o vetor e os reservatórios silvestres e domésticos e o homem, todos com diferentes capacidades de dispersão e movimentação, portanto, os processos envolvidos nessa infecção são espacialmente dependentes (COSTA et al., 2018). Considerando que a LVH e a LVC apresentam acentuado impacto em Saúde Pública, este estudo foi realizado com objetivo de investigar a distribuição espacial de cães infectados por *Leishmania* spp. por meio dos testes sorológicos DPP e ELISA, bem como, analisar a densidade vetorial na região urbana de Araçatuba, SP, Brasil.

2.4 Material e Métodos

2.4.1 Período e Área do Estudo

O estudo foi desenvolvido durante o mês de março de 2018, na zona urbana do município de Araçatuba, localizada na região noroeste do estado de São Paulo, Brasil, com uma área de 1.167,129 km² e população estimada em 195.874 habitantes (IBGE, 2019).

A referida cidade foi dividida em oito áreas, com cinco setores cada, exceto a oitava área que tinha apenas um setor, totalizando 36 setores, de acordo com, a Divisão do Programa de Vigilância e Controle da Dengue (DPVCD). Em cada setor, foram selecionadas duas casas com distância mínima de 250m entre elas, obedecendo a dispersão na área urbana da espécie *Lu. longipalpis* (OLIVEIRA, et al., 2013).

2.4.2 Seleção das Casas

As 72 residências foram selecionadas por amostragem por conveniência, em quadras onde foram confirmados casos de leishmaniose visceral humana ou

canina, nos últimos quatro anos, com base em informações compartilhadas pela Superintendência de Controle de Endemias de Araçatuba, SP - SR-09 (SUCEN). Como critério de exclusão, não foram arroladas as casas que os tutores afirmavam ter vacinado seus cães contra a leishmaniose visceral. Todas as residências foram georreferenciadas para posterior análises espaciais.

2.4.3 Delineamento Experimental

2.4.3.1 Cálculo amostral

A amostragem mínima necessária para a execução deste projeto, no nível de confiança de 95%, com precisão absoluta de 10% e levando em consideração a população canina de Araçatuba, que foi estimada em 39.175 animais (NUNES et al., 1997) foi calculada em 96 amostras, usando uma prevalência da doença de 50% (LWANGA; LEMESHOW, 1991).

2.4.3.2 População do estudo

Para haver margem de segurança, um total de 131 cães domiciliados foram examinados sorologicamente, sendo 49 machos e 82 fêmeas, sem raça definida (SRD), residentes nas 72 casas selecionadas. Em relação às faixas etárias, estes animais foram classificados como jovens, adultos e idosos respectivamente cães menores de dois anos, de dois a sete anos e acima de sete anos (BORTOLETTO et al., 2016).

2.4.3.3 Coleta de material

Amostras individuais de 3,0 mL de sangue foram coletadas por meio de venopunção cefálica com seringas e agulhas descartáveis, e armazenadas em tubos contendo Ethylenediamine Tetraacetic Acid (EDTA). Os soros das amostras foram obtidos por centrifugação a 1000 força da gravidade (*g*) por 10 minutos e armazenados a -70°C até o momento de execução das análises sorológicas.

2.4.3.4 Coletas de flebotomíneos

As coletas de flebotomíneos foram realizadas com armadilhas luminosas do tipo CDC (Figura 5), que foram dispostas nas residências de todos os participantes

do projeto. Duas armadilhas foram instaladas, sendo uma no intradomicílio e outra no peridomicílio. Assim, as capturas destes insetos foram conduzidas durante três noites consecutivas, com um período de exposição 19:00 as 07:00. Ao final deste período, os sacos coletores foram removidos e acondicionados em embalagens plásticas, até o laboratório.

Os flebotomíneos capturados foram submetidos a uma triagem sob estereomicroscópio, para suas separações dos demais insetos (Figura 6).

Figura 5 - Armadilhas luminosas do tipo CDC, instaladas no intra (lado esquerdo) e peridomicílio (lado direito) das residências do estudo.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 6 – Flebotomíneos da espécie *Lu. longipalpis*, representado pelo macho (lado esquerdo) e a fêmea alimentada de sangue (direita).



Fonte: Elaborado pelo autor.

2.4.3.5 Ficha de investigação e observação ambiental

Ficha de investigação (Anexo A) para cada cão foi preenchida em nome do seu tutor, para obtenção de dados específicos, como gênero, faixa etária e estilo de vida - animais domiciliados (aqueles dependentes de seus tutores que saem do domicílio acompanhados e contidos por meio de guias e coleiras) ou semi-domiciliados (dependentes de seus tutores, que permanecem fora do domicílio por um tempo indeterminado).

O questionário (Anexo B), foi efetuado em forma de entrevista individual, sendo aplicado para a obtenção de dados de cada morador participante, com o intuito de definir as variáveis epidemiológicas que poderiam estar correlacionadas com a ocorrência da LV, bem como presença de outros animais domésticos, de vegetação e árvores frutíferas.

2.4.4 Exames Laboratoriais

Dois testes sorológicos para a detecção de anticorpos para *Leishmania* spp. nos cães, sendo o primeiro o teste rápido imunocromatográfico, Dual-Path Platform (TR DPP® - Bio-Manguinhos/Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil) empregado com proteínas recombinantes rK39 de *L. chagasi* e a Proteína A Conjugada ao Ouro

Coloidal (HIRSCHMANN et al., 2015). O teste confirmatório das amostras positivas para o DPP foi o Ensaio Imunoenzimático (ELISA - Bio-Manguinhos/Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil) para constatação de anticorpos Anti-*L. major*-like. O cut-off foi definido com base nas instruções do fabricante e considerado a partir da média da densidade óptica dos controles negativos multiplicada por dois (COURA-VITAL et al., 2014). Ambos os testes foram executados conforme as orientações recomendadas pelos fabricantes.

2.4.5 Estatística

A análise dos dados constituiu-se de estatística descritiva, análise de regressão logística multivariada para verificar fatores de risco para LVC. As estatísticas foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

2.4.5.1 Análise de Kernel

Esta análise permite a visualização tanto da distribuição espacial quanto da intensidade dos eventos (PFEIFFER, 2008). Uma função de intensidade de Kernel quártico foi utilizada para compor uma superfície suavizada, cujo valor é proporcional à intensidade de eventos por unidade de área (CÂMARA; CARVALHO, 2004). A análise foi estimada tanto para animais soronegativos quanto soropositivos, a partir do programa computacional QGIS VERSÃO 3.2, assim como todos os mapas foram realizados nele.

2.4.5.2 Cluster local

O método de varredura espacial (KULLDORFF & NAGARWALLA, 1995) foi realizado usando o programa computacional SatScan® versão 9.5. Desde modo, foram considerados para a análise, os casos (soropositivos) e os controles (soronegativos) usando o modelo estatístico com distribuição de *Bernoulli*. Para cada cluster em potencial, foi calculado o teste da razão de verossimilhança comparando a hipótese de que o risco da doença é maior no interior do círculo contra a hipótese de que o risco é igual para as áreas dentro e fora do círculo. O círculo com máximo valor da razão de verossimilhança é considerado o *cluster* mais provável (PFEIFFER et al., 2008). O nível de significância considerado para os *clusters* foi $p < 0,05$.

2.4.5.3 Densidade do vetor

A densidade vetorial em cada uma das oito áreas do estudo foi estimada pelo cálculo do número de vetores capturados pela sua área geográfica (em km²).

2.4.6 Comitê de ética

O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animal (CEUA) da Faculdade de Odontologia de Araçatuba e da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba (FMVA) UNESP, Campus de Araçatuba, processo FOA n° 00870-2016 (Anexo C) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP, Campus de Araçatuba, processo FOA n° 61241216.4.0000.5420 (Anexo D).

2.5 Resultados

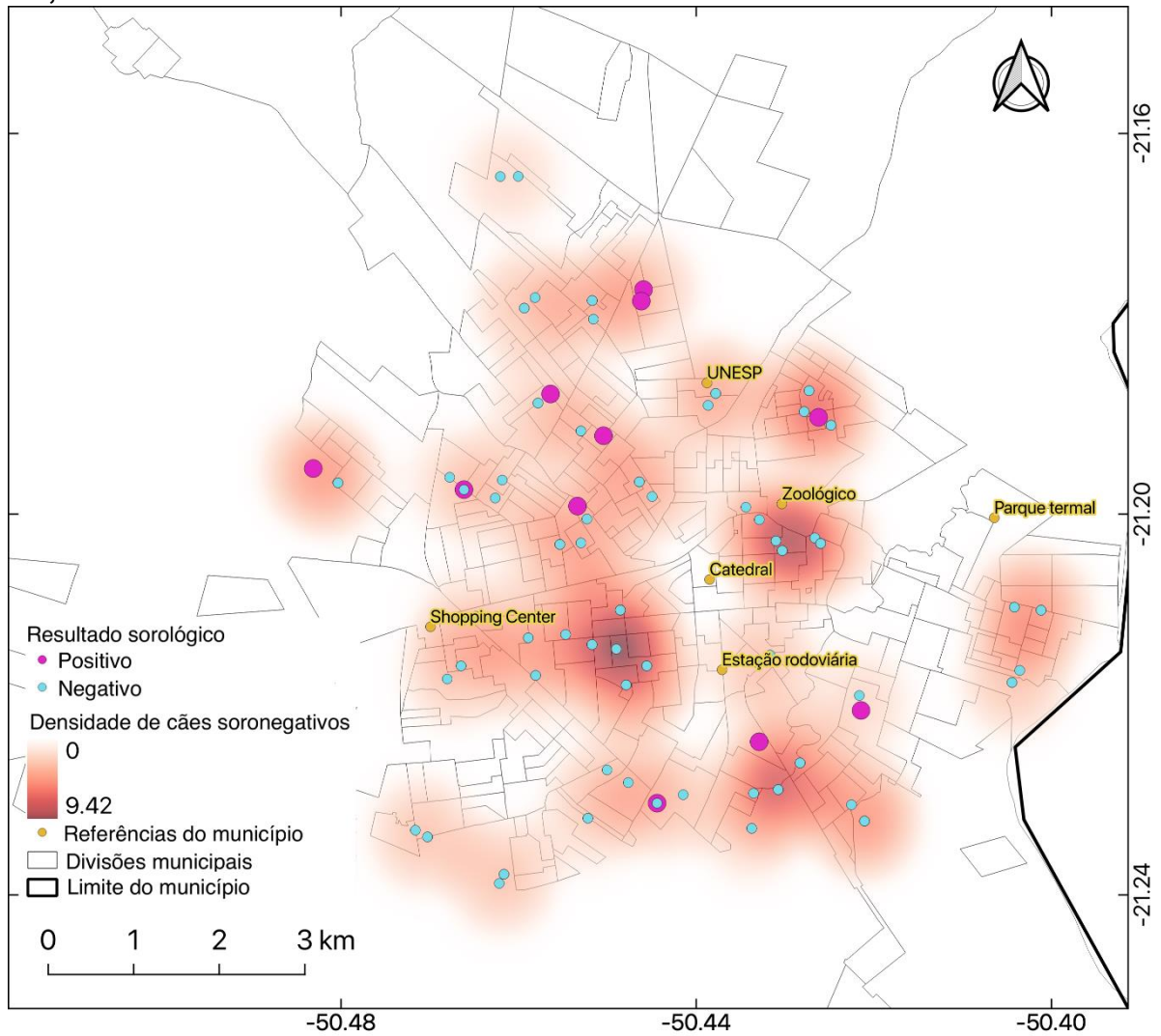
Pela análise de casos e controles, pôde ser observado que os cães soropositivos para *Leishmania* spp. se concentraram principalmente na região norte (Figura 7). Já os soronegativos se encontraram em toda região, com maior evidência no centro e sul da área do estudo (Figura 8). A densidade de cães soronegativos foi muito maior do que de cães soropositivos. Entretanto, embora estas sejam áreas diferentes, não foi encontrada significância na prevalência espacial ($p > 0.05$) em toda a região do estudo, de acordo com a análise do cluster local. Houve duas residências com cães soropositivos e negativos.

Figura 7 - Distribuição dos cães de acordo com seus status imunológicos e densidade Kernel de cães soropositivos para *Leishmania* spp. no município de Araçatuba, SP, Brasil.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 8 - Distribuição dos cães de acordo com seus status imunológicos e densidade de cães soronegativos para *Leishmania* spp. no município de Araçatuba, SP, Brasil.



Fonte: Elaborado pelo autor.

De um total de 131 cães, 27 (20,61%; IC 95%: 14,57-28,33%) foram reagentes no teste DPP para *Leishmania* spp. e 11 destes (40,74%; IC 95%: 24,51-59,27%) foram confirmados no exame do ELISA, resultando em uma prevalência de 8,4% (11/131).

Pela análise de estatística descritiva e de regressão não foi observada associação ($P < 0,05$) das variáveis analisadas sobre a ocorrência da *Leishmania* spp. nos cães avaliados (Tabela 2).

Tabela 1 - Cães reagentes e não reagentes pelos DPP e ELISA para *Leishmania* spp. de acordo com as variáveis do estudo.

Variáveis	Categorias (N)	DPP + ELISA			
		Reagente		Não reagente	
		N	%	N	%
Gênero	F (82)	5	6,10	77	93,90
	M (49)	6	12,24	43	87,76
Faixa etária	Jovem (23)	2	8,70	21	91,30
	Adulto (78)	6	7,69	72	92,31
	Idoso (30)	3	10,00	27	90,00
Domiciliado	Domiciliado (102)	8	7,84	94	92,16
	Semi-domiciliado (29)	3	10,34	26	89,66
Local onde o cão dorme	Dentro de casa (27)	0	0,00	27	100,00
	Fora de casa (104)	11	10,58	93	89,42
Presença de galinha	Sim (37)	2	5,41	35	94,59
	Não (94)	9	9,57	85	90,43
Presença de gato	Sim (40)	2	5,00	38	95,00
	Não (91)	9	9,89	82	90,11
Presença de Pássaro	Sim (36)	5	13,89	31	86,11
	Não (95)	6	6,32	89	93,68
Presença de Flebotomíneo	Sim (31)	1	3,23	30	96,77
	Não (100)	10	10,00	90	90,00
Vegetação na casa	Sim (118)	11	9,32	107	90,68
	Não (13)	0	0,00	13	100,00
Árvore Frutífera	Sim (88)	8	9,09	80	90,91
	Não (43)	3	6,98	40	93,02

N= Número de cães; %= porcentagem; F= fêmea; M= macho; (+) = realização dos testes DPP como triagem e o ELISA como confirmatório;

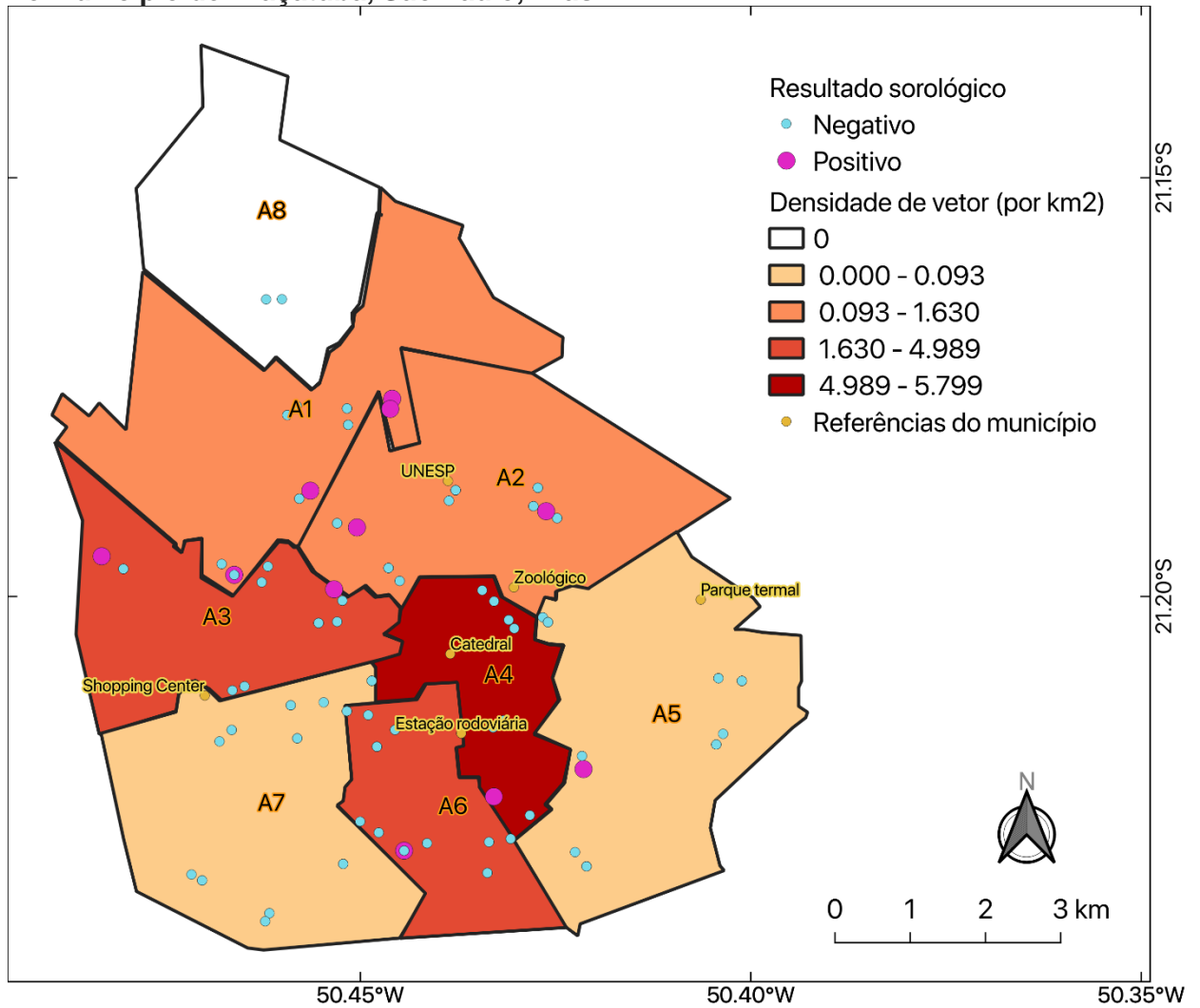
Fonte: Elaborado pelo autor.

Lu. longipalpis foi o único inseto vetor da *L. infantum* capturado na cidade de Araçatuba, SP, no período do estudo. Um total de 120 espécimes do vetor foram capturadas em sete das oito áreas investigadas. Isto pode ter sido evidenciado pelo fato da área oito ter apenas duas casas e as outras áreas terem dez.

Com relação a distribuição do *Lu. longipalpis*, foi observado que não houve correlação entre as áreas de maior densidade vetorial com taxas de maior ocorrência da LVC (Figura 9). Dessa forma, as áreas um (A1) e dois (A2) demonstraram a mesma densidade vetorial. No entanto, na primeira foi verificada maior prevalência de cães sororeagentes para *Leishmania* spp. 36,36% (4/11) em relação a segunda 18,18% (2/11). Já a quarta área (A4) apresentou prevalência baixa, de 9,09% (1/11), porém maior densidade vetorial.

As áreas três (A3) e seis (A6) mostraram a mesma densidade vetorial, porém, a prevalência de animais sororeagentes foi 18,18% (2/11) e 9,09% (1/11), respectivamente. Nas áreas cinco (A5) e sete (A7) também foi observada a mesma densidade de insetos, no entanto a prevalência de cães soropositivos foi 9,09% (1/11) e 0% (0/11), respectivamente.

Figura 9 - Distribuição de *Lu. longipalpis* por quebra natural dos dados nas oito áreas no município de Araçatuba, São Paulo, Brasil.



Fonte: Elaborado pelo autor.

2.6 Discussão

De maneira inédita, a distribuição espacial e análise dos casos caninos soropositivos e soronegativos pelos testes DPP e ELISA para *Leishmania* spp. está representada na área urbana do município de Araçatuba, SP. Um estudo anteriormente foi realizado com outros testes sorológicos (CAMARGO-NEVES et al., 2001).

Apesar de não ter ocorrido significância da prevalência nas diferentes áreas, os animais soropositivos para *Leishmania* spp. estavam concentrados na região norte, com alguns na região sul. Em outro trabalho, também houve maior prevalência na região norte, sem soropositividade na região sul (CAMARGO-NEVES

et al., 2001), o que demonstrou que provavelmente com o tempo houve dispersão nesta área urbana do município.

A soroprevalência da LVC no estudo foi de 8,4%, coerente com trabalhos realizados no município, como 12,1% no censo sorológico canino (CAMARGO-NEVES et al., 2001) e 8,1% em uma determinada região da cidade (COSTA et al., 2018).

Neste estudo, foram examinados 131 cães, sendo 27 sororeagentes para *Leishmania* spp. pelo DPP e apenas 11 confirmados por meio do ELISA. Esta diferença pode ser explicada, devido ao teste rápido apresentar uma sensibilidade e especificidade baseada nas proteínas rK39, sendo que já foi demonstrado em estudos uma sensibilidade maior para detecção de cães sintomáticos do que assintomáticos (GRIMALDI JR et al., 2012; NUNES et al., 2015; CARVALHO et al., 2018).

Em cidades endêmicas, como Araçatuba, onde a eutanásia de cães soropositivos para LVC é adotada como medida de controle, foi verificado que a população tende a ser mais jovem devido à substituição de cães pelos tutores, e, portanto, mais suscetível a doenças infecciosas (NUNES et al., 2008; BORTOLLETO et al., 2016). Por outro lado, em áreas onde não se aplica eutanásia com frequência a prevalência da LVC tende a aumentar conforme a idade. (MOREIRA et al., 2003). Embora nesta pesquisa tenha sido avaliada uma área com frequente eutanásia e reposição de cães, os resultados não foram observados diferença significativa de infecção entre as faixas etárias.

No presente estudo, embora tenha ocorrido mais machos infectados do que fêmeas, esse resultado não foi significativo. Isto já foi previamente observado assim como observado por outros autores (MOREIRA et al., 2003). No entanto, tem sido notado que a infecção por *Leishmania* spp. em cães machos foi mais prevalente do que em fêmeas (DANTAS-TORRES et al., 2006). O estilo de vida dos cães mantidos no peridomicílio durante a noite, período de maior atividade dos *Lu. longipalpis* (BRAZIL; BRAZIL, 2003), pode aumentar o risco de exposição aos flebotomíneos e conseqüentemente a esta parasitose (DANTAS-TORRES, 2009). O vetor é ativo a partir do crepúsculo (BRAZIL et al., 2015). Assim, isto possivelmente pode ser uma questão de exposição ambiental e comportamental e não devido ao gênero (MICHELIN et al., 2018). Ou até mesmo, um estilo de criação, em que tutores mantém seus animais dentro ou fora de casa. No presente estudo, embora 100% dos animais

que dormem dentro de casa tenham sido soronegativos, essa variável não foi significativa.

Dos espécimes capturados, *Lu. longipalpis* foi o único vetor encontrado nas sete das oito áreas investigadas. A baixa densidade vetorial da área oito, pode ser explicada pela quantidade de residências nesta área e consequentemente a ausência da LVC.

Apesar das coletas entomológicas terem sido executadas em apenas um mês, foi notado que a expansão destes insetos pela área urbana de Araçatuba, SP, pois em estudo anterior, estes apresentavam uma maior densidade nas regiões centro e sul da cidade (CAMARGO-NEVES et al., 2001).

Apesar de não ter sido evidenciada associação da ocorrência de anticorpos contra *Leishmania* spp. e a presença de galinhas, isso provavelmente pode ser explicado, em virtude da baixa frequência de domicílios com galináceos.

As galinhas podem ser uma fonte de abrigo e alimento para os flebotomíneos, bem como, a vegetação na residência (OLIVEIRA et al., 2012), principalmente as árvores frutíferas (JUNNILA et al., 2011), que já foram apontados como fatores de risco para a presença desta enfermidade em virtude de atrair flebotomíneos (VIANNA et al., 2016). Entretanto, no presente estudo este fator também não demonstrou significância para os casos caninos.

A região central (A4) continua sendo uma área de maior densidade vetorial, como foi destacado em outro estudo (CAMARGO-NEVES et al., 2001), isso pode ser explicado por estas áreas apresentarem residências com quintais grandes, com árvores de médio a grande porte, em sua maioria frutíferas, causando sombreamento e umidade no solo, assim como criação de outros animais como gatos, pássaros e galinhas, bem como sabemos estes fatores podem propiciar a criação e proliferação de flebotomíneos.

No presente estudo, também não foi observada associação da distribuição do vetor com residência de cães infectados por *Leishmania* spp. Este resultado já foi observado (CAMARGO-NEVES et al., 2001) e pode ser decorrente do fato que as capturas de vetor foram feitas em tempo pontual, enquanto que o resultado sorológico para *Leishmania* spp. pode ser decorrente de infecções recentes ou tardias, uma vez que os títulos altos de anticorpos em cães podem se manter por mais de um ano (OLIVA et al., 2006; GARCIA et al., 2009).

2.7 Conclusão

A análise espacial com uso dos testes recomendados pelo MS para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina foi realizada pela primeira vez na região urbana de Araçatuba, SP.

2.8 Referências

ALVAR, J.; S, YACTAYO, BERN, C. Leishmaniasis and poverty. **Trends Parasitol.**, Oxford, v. 22, n. 12, p. 552-557, Oct. 2006.

BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de vigilância em saúde. **Esclarecimentos sobre o diagnóstico sorológico da leishmaniose visceral canina utilizado na rede pública de saúde**, Nota Técnica n.1/2011, UVR/CGDT/DEVEP/SVS/MS, 2011.

BRAZIL, R. P.; BRAZIL, B. G. Biologia de flebotômíneos neotropicais. In: Rangel EF, Lainson R. **Flebotômíneos do Brasil**. Rio de Janeiro: **Fiocruz**, p. 257-274, 2003.

BRAZIL, R. P.; RODRIGUES, A. A. F.; ANDRADE FILHO, J. D. Sand Fly Vectors of Leishmania in the Americas - A Mini Review. **Entomol. Ornithol. Herpetol.**, Barcelona, v. 4, n. 2, p. 1-4, Jan. 2015.

BORTOLETTO, D. V.; UTSUNOMIYA, Y. T.; PERRI, S. H. V.; FERREIRA, F.; NUNES, C. M. Age structure of owned dogs under compulsory culling in a visceral leishmaniasis endemic área. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 8, p. 1-9, ago. 2016.

CÂMARA, G.; CARVALHO, M. S. **Análise espacial de dados geográficos**. Planaltina: Distrito Federal. p. 53-122, 2004.

CAMARGO-NEVES, V. L. F.; KATZ, G.; RODAS, L. A. C.; POLETTO, D. W.; LAGE, L. C.; SPÍNOLA, R. M. F.; CRUZ, O. G. Utilização de ferramentas de análise espacial na vigilância epidemiológica de leishmaniose visceral americana – Araçatuba, São Paulo, Brasil, 1998-1999. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 5, p. 1263-1267, set.-out. 2001.

CAMARGO-NEVES, V. L. F.; SPÍNOLA, R.; LAGE, L. A leishmaniose visceral americana no estado de São Paulo: situação epidemiológica em 2001-2002. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v. 36, (supl. II), p. 27-29, 2003.

CARVALHO, F. L. N.; RIBOLDI, E. O.; BELLO, G. L.; RAMOS, R. R.; BARCELLOS, R. B.; GEHLEN, M.; HALON, M. L.; ROMÃO, P. R. T.; DALLEGRAVE, E.; ROSSETTI, M. L. R. Canine visceral leishmaniasis diagnosis: a comparative performance of serological and molecular tests in symptomatic and asymptomatic dogs. **Epidemiol. Infect.**, Cambridge, v. 146, p. 571–576, Feb. 2018.

COSTA, I. P.; CASANOVA, C.; RODAS, L. A. C.; GALATI, E. A. B. Atualização da distribuição geográfica e primeiro encontro de *Lutzomyia longipalpis* em área urbana no Estado de São Paulo, Brasil. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 31, n. 6, p. 632-633, dez. 1997.

COSTA, D. N. C. C.; BLANGIARDO, M.; RODAS, L. A. C.; NUNES, C. M.; HIRAMOTO, R. M.; TOLEZANO, J. E.; BONFIETTI, L. X.; BERMUDI, P. M. M.; CIPRIANO, R. S.; CARDOSO, G. C. D.; CODEÇO, C. T.; CHIARAVALLOTI-NETO, F. Canine visceral leishmaniasis in Araçatuba, state of São Paulo, Brazil, and its relationship with characteristics of dogs and their owners: a cross-sectional and spatial analysis using a geostatistical approach. **Vet. Res.**, Cambridge, v. 14, n. 229, p. 1-13, July 2018.

COURA-VITAL, W.; KER, H. G.; ROATT, B. M.; AGUIAR-SOARES, R. D. O.; LEAL, G. G. A.; MOREIRA, N. D.; OLIVEIRA, L. A. M.; MACHADO, E. M. M.; MORAIS, M. H. F.; OLIVEIRA, R. C.; CARNEIRO, M.; REIS, A. B. Evaluation of change in canine diagnosis protocol adopted by the visceral Leishmaniasis control program in Brazil and a New proposal for diagnosis. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 9, n. 3, p. 1-6, Mar. 2014.

DANTAS-TORRES, F.; BRITO, M. E. F.; BRANDÃO-FILHO, S. P. Seroepidemiological survey on canine leishmaniasis among dogs from an urban área of Brazil. **Vet. Parasitol.**, Cambridge, v. 140, p. 54–60, Mar. 2006.

DANTAS-TORRES, F. Canine leishmaniosis in South America. **Parasit. Vectors**, London, v. 2, n. 1, p. 1-8, Mar. 2009.

DANTAS-TORRES, F.; SOLANO-GALLEGOS, L.; BANETH, G.; RIBEIRO, V. M.; PAIVA-CAVALCANTI, M.; OTRANTO, D. Canine leishmaniosis in the Old and New Worlds: unveiled similarities and differences. **Trends Parasitol.**, Oxford, v. 28, n. 12, p. 531–538, Dec. 2012.

DI LORENZO, C.; PROIETTI, F. A. Leishmaniose visceral canina como fator de risco para a leishmaniose visceral humana: o que sabemos e o que não sabemos ainda. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Rio de Janeiro, v. 35, p. 75-81, 2002.

GALATI, E. A. B.; NUNES, V. L.; REGO JUNIOR, F. A.; OSHIRO, E. T.; RODRIGUES, M. Estudo de flebotômíneos (Diptera, Psychodidae) em foco de leishmaniose visceral no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 31, n. 4, p. 378-390, ago. 1997.

GALVIS-OVALLOS, F.; SILVA, M. D.; BISPO, G. B. S.; OLIVEIRA, A. G.; GONÇALVES NETO, J. R.; MALAFRONTA, R. S.; GALATI, E. A. B. Canine visceral leishmaniasis in the metropolitan area of São Paulo: *Pintomyia fischeri* as potential vector of *Leishmania infantum*. **Parasite**, Paris, v. 24, n. 2, p. 1-10, Jan. 2017.

GARCIA, A. M.; REBELO, J. M. M.; CALDAS, A.; GOMES, R.; VINHAS, V.; BARRAL, A. História natural da infecção causada por *Leishmania chagasi* em cães (*Canis familiaris*) domiciliados em área endêmica da Ilha de São Luis - Maranhão, Brasil. **Gaz. Méd. Bahia**, Bahia, v. 79, n. 3, p. 147–155, jun. 2009.

GRIMALDI JR, G.; TEVA, A.; FERREIRA, A. L.; SANTOS, C. B.; PINTO, I. S.; AZEVEDO, C. T.; FALQUETO, A. Evaluation of a novel chromatographic immunoassay based on dual-path platform technology (DPP® CVL rapid test) for the serodiagnosis of canine visceral leishmaniasis. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, London, v. 106, p. 54–59, Oct. 2012.

HIRSCHMANN, L. C.; BROD, C. S.; RADIN, J.; SIMON, C. F.; RECUERO, A. L. C. Leishmaniose visceral canina: comparação de métodos sorológicos em cães de área indene do Rio Grande do Sul no Brasil. **Rev. Patol. Trop.**, Goiânia, v. 44, n. 1, p. 33-44, jan.-mar. 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). *IBGE Cidades@*, 2019. [cited 2018 July 01] Available from:

<http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?lang=&codmun=350280&search=sao-paulo%7Caracatuba%7Cinfograficos:-informacoes-completas>

JUNNILA, A.; MÜLLER, G. C.; SCHLEIN, Y. Attraction of *Phlebotomus papatasi* to common fruit in the field. **J. Vector Ecol.**, Santa Ana, v. 36, n. 1, p. 206-211, Mar. 2011.

LAINSON, R.; RANGEL, E. F. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil - A Review. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 100, n. 8, p. 811-827, Dec. 2005.

LWANGA, S. K.; LEMESHOW, S. **Sample size determination in health studies: a practical manual**. Geneva: World Health Organization, p. 80, 1991.

MICHELIN, A. F.; MACIEL, M. O. S.; OKAJIMA, M.; NUNES, C. M.; PERRI, S. H. V.; BONFIETTI, L. X. Factors associated with positivity for canine visceral leishmaniosis in an endemic area in Brazil. **Vet. Parasitol.**, Amsterdam, v. 12, p. 13-16, Jan. 2018.

MOREIRA, E. D. J. R.; DE SOUZA, V. M.; SREENIVASAN, M.; LOPES, N. L.; BARRETO, R. B.; DE CARVALHO, L. P. Peridomestic risk factors for canine leishmaniasis in urban dwellings: new findings from a prospective study in Brazil. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, Baltimore, v. 69, n. 4, p. 393-7, 2003.

NUNES, C. M.; MARTINES, D. A.; FIKARIS, S.; QUEIROZ, L. H. Avaliação da População Canina da Zona Urbana do Município de Araçatuba. **Rev. Saude Publica**, São Paulo, v. 31, n. 3, p. 308–309, out. 1997.

NUNES, C. M.; LIMA, V. M. F.; PAULA, H. B.; PERRI, S. H. V.; ANDRADE, A. M.; DIAS, F. E. F.; BURATTINI, M. N. Dog culling and replacement in an area endemic for visceral leishmaniasis in Brazil. **Vet. Parasitol.**, Amsterdam, v. 153, p. 19–23, Jan. 2008.

NUNES, C. M.; LIMA, V. M. F.; MELO, G. D.; PAULA, H. B.; PEREIRA, M. E. G.; TRONCO, C. M. T.; HIRAMOTO, R. M.; LAURENTI, M. D.; BURATTINI, M. N. Serological, parasitological and molecular tests for canine visceral leishmaniosis diagnosis in a longitudinal study. **Braz. J. Vet. Parasitol.**, Jaboticabal, v. 24, n. 4, p. 402-409, out.- dez. 2015.

OLIVA, G.; SCALONE, A.; MANZILLO, V. F.; GRAMICCIA, M.; PAGANO, A.; MUCCIO, T. D. I.; GRADONI, L. Incidence and Time Course of *Leishmania infantum* Infections Examined by Parasitological, Serologic, and Nested-PCR Techniques in a Cohort of Naive Dogs Exposed to Three Consecutive Transmission Seasons. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, v. 44, n. 4, p. 1318–1322, Apr. 2006.

OLIVEIRA, E. F.; SILVA, E. A.; FERNANDES, C. E. S.; PARANHOS FILHO, A. C.; GAMARRA, R. M.; RIBEIRO, A. A.; BRAZIL, R. P.; OLIVEIRA, A. G. Biotic factors and occurrence of *Lutzomyia longipalpis* in endemic area of visceral leishmaniasis, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz.**, Rio de Janeiro, v. 107, n. 3, p. 396-401, May 2012.

OLIVEIRA, E. F.; SILVA, E. A.; CASARIL, A. E.; FERNANDES, C. E. S.; PARANHOS FILHO, A. C.; GAMARRA, R. M.; RIBEIRO, A. A.; BRAZIL, R. P.; OLIVEIRA, A. G. Behavioral Aspects of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera:Psychodidae) in Urban Area Endemic for Visceral Leishmaniasis. **J. Med. Entomol.**, Annapolis, v. 50, n. 2, p. 277-284, Mar. 2013.

OLIVEIRA, E. F.; OSHIRO, E. T.; FERNANDES, W. S.; MURAT, P. G.; MEDEIROS, M. J.; SOUZA, A. I.; OLIVEIRA, A. G.; GALATI, E. A. B. Experimental infection and transmission of *Leishmania* by *Lutzomyia cruzi* (Diptera: Psychodidae): Aspects of the ecology of parasite-vector interactions. **PLOS Negl. Trop. Dis.**, San Francisco, v. 11, n. 02, p. 1-23, Feb. 2017.

PFEIFFER, D.; ROBINSON, T.; STEVENSON, M.; STEVENS, K. B.; ROGERS, D. J.; CLEMENTS, A. C. **Spatial analysis in epidemiology**. 2008.

SÃO PAULO - Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjak”. **Mapas Leish. Visceral**. Fonte: SINANNET/Sucen. [cited 2019a Apr 10] Available from: http://www.saude.sp.gov.br/resources/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica/areas-de-vigilancia/doencas-de-transmissao-por-vetores-e-zoonoses/dados/leish/lv_mapas.pdf

SÃO PAULO - Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjak”. LVAH – **Casos confirmados de Leishmaniose Visceral segundo LPI e ano de notificação, Estado de São Paulo, 2014 a 2019**; Fonte: SINANNET/Divisão de

Zoonoses CVE/CCD/SES-SP e dados provisórios atualizados em 10/04/2019b. [cited 2019 Apr 10] Available from: http://www.saude.sp.gov.br/resources/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica/areas-de-vigilancia/doencas-de-transmissao-por-vetores-e-zoonoses/dados/leish/lv1419_lpi.pdf

SEVÁ, A. D. P.; MAO, L.; GALVIS-OVALLOS, F.; TUCKER LIMA, J. M.; VALLE, D. Risk analysis and prediction of visceral leishmaniasis dispersion in São Paulo State, Brazil. **PLOS Negl. Trop. Dis.**, San Francisco, v. 11, n. 2, p. 1-17, Feb. 2017.

VIANNA, E. N.; MORAIS, M. H. F.; ALMEIDA, A. S.; SABROZA, P. C.; REIS, I. A.; DIAS, E. S.; CARNEIRO, M. Abundance of *Lutzomyia longipalpis* in urban households as risk factor of transmission of visceral leishmaniasis. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 111, n. 5, p. 302-310, May 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. *Leishmaniasis*. In: Leishmaniasis Key facts [Internet]. 14 March 2019 p. 1-5. [cited 2019 Mar 14] Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>

APÊNDICE A– “Referências da Introdução Geral”

AGUIAR, G. M.; MEDEIROS, W. M. Distribuição e habitats. In: RANGEL, E. F.; LAINSON, R. (Org.). **Flebotomíneos do Brasil**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2003, cap. 3, p. 207-255.

ALVAR, J.; VÉLEZ, I. D.; BERN, C.; HERRERO, M.; DESJEUX, P.; CANO, J.; JANNIN, J.; DEN BOER, M. Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 7, n. 5, p. 1-12, May. 2012.

ALVES, G. B.; OSHIRO, E. T.; LEITE, M. C.; MELÃO, A. V.; RIBEIRO, L. M.; MATEUS, N. L. F.; BRAZIL, R. P.; ANDRADE FILHO, J. D.; OLIVEIRA, A. G. Phlebotomine sandflies fauna (Diptera: Psychodidae) at rural settlements in the municipality of Cáceres, State of Mato Grosso, Brazil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, São Paulo, v. 45, n. 4, p. 437-443. Jul-Aug. 2012.

ALVES, G. B.; BRESCIANI, K. D. S.; RODAS, L. A. C. Control Measures Against Visceral Leishmaniasis in Brazil: Their Challenges. **Ann. Clin. Cytol. Pathol.**, San Diego, v. 3, n. 2, p. 1-4, April 2017.

ALTEN, B.; OZBEL, Y.; ERGUNAY, K.; KASAP, O. E.; CULL, B.; ANTONIOU, M.; VELO, E.; PRUDHOMME, J.; MOLINA, R.; BAÑULS, A. L.; SCHAFFNER, F.; HENDRICKX, G.; VAN BORTEL, W.; MEDLOCK, J. M. Sampling strategies for phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in Europe. **Bull. Entomol. Res.**, London, v. 105, p. 664–678, Aug. 2015.

BIANCHI, M. V.; FREDO, G.; TAGLIARI, N. J.; LEITE FILHO, R. V.; LORENZO, C.; LUPION, C. G.; DRIEMEIER, D.; SONNE, L. Leishmaniose Visceral Canina autóctone na região urbana de Porto Alegre, RS, Brasil. **Acta Sci. Vet.**, Porto Alegre, v. 44, p. 1-4, jan. 2016.

BLANCO, V. R.; NASCIMENTO-JÚNIOR, N. M. Leishmaniose: Aspectos Gerais Relacionados com a Doença, o Ciclo do Parasita, Fármacos Disponíveis, Novos Protótipos e Vacinas. **Rev. Virtual Quim.**, v. 9, n. 3, p. 861-876, abr. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Coordenação de Vigilância das Doenças Transmitidas por Vetores e Antropozoonose. **Leishmaniose visceral grave**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2006.

BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de vigilância em saúde. **Esclarecimentos sobre o diagnóstico sorológico da leishmaniose visceral canina utilizado na rede pública de saúde**, Nota Técnica n.1/2011, UVR/CGDT/DEVEP/SVS/MS, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilancia em Saude. Departamento de Vigilancia Epidemiologica. **Manual de vigilancia e controle da leishmaniose visceral**. Ministério da Saúde. 2014; 1. ed., 5. reimpr. 01-120.

BRAZIL, R. P.; BRAZIL, B. G. Biologia de flebotomíneos neotropicais. In: Rangel EF, Lainson R. **Flebotomíneos do Brasil**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2003. p. 257-274.

BRAZIL, R. P. The dispersion of *Lutzomyia longipalpis* in urban areas. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v. 46, n. 3, p. 263-264, May-June 2013.

BRAZIL, R. P.; RODRIGUES, A. A. F.; ANDRADE FILHO, J. D. Sand Fly Vectors of Leishmania in the Americas - A Mini Review. **Entomol. Ornithol. Herpetol.**, Barcelona, v. 4, n. 2, p. 1-4. Jan. 2015.

BRAY, D. P.; ALVES, G. B.; DORVAL, M. E.; BRAZIL, R. P.; HAMILTON, J. G. Synthetic sex pheromone attracts the leishmaniasis vector *Lutzomyia longipalpis* to experimental chicken sheds treated with insecticide. **Parasit. Vectors**, London, v. 3, n. 16, p. 1-11, Mar. 2010.

BRAY, D. P.; CARTER, V.; ALVES, G. B.; BRAZIL, R. P.; BANDI, K. K.; HAMILTON, J. G. C. Synthetic Sex Pheromone in a Long-Lasting Lure Attracts the Visceral Leishmaniasis Vector, *Lutzomyia longipalpis*, for up to 12 Weeks in Brazil. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, San Francisco, v. 8, n. 3, p. 1-9, Mar. 2014.

BURNS JUNIOR, J. M.; SHREFFLER, W. G.; BENSON, D. R.; GHALIB, H. W.; BADARO, R.; REED, S. G. Molecular characterization of a kinesin-related antigen of *Leishmania chagasi* that detects specific antibody in African and American visceral leishmaniasis. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, New Delhi, v. 90, p. 775-779, Jan. 1993.

CARMO, R. F.; LUZ, Z. M. P.; BEVILACQUA, P. D. Percepções da população e de profissionais de saúde sobre a leishmaniose visceral. **Cien. Saúde Colet.**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 2, p. 621-628, jun. 2016.

CASANOVA, C.; COLLA-JACQUES, F. E.; HAMILTON, J. G. C.; BRAZIL, R. P.; SHAW, J. J. Distribution of *Lutzomyia longipalpis* Chemotype Populations in São Paulo State, Brazil. **PLOS Negl. Trop. Dis.**, San Francisco, v. 9, n. 3, p. 1-14, Mar. 2015.

COLOMBO, F. A.; ODORIZZI, R. M. F. N.; LAURENTI, M. D.; GALATI, E. A. B.; CANAVEZ, F.; PEREIRA-CHIOCCOLA, V. L. Detection of *Leishmania (Leishmania) infantum* RNA in fleas and ticks collected from naturally infected dogs. **Parasitol. Res.**, v. 109, n. 2, p. 267–274, Aug. 2011.

CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA VETERINÁRIA (CRMV). **Manual Técnico de Leishmanioses Caninas**. p. 43, 2015.

COSTA, I. P.; CASANOVA, C.; RODAS, L. A. C.; GALATI, E. A. B. Atualização da distribuição geográfica e primeiro encontro de *Lutzomyia longipalpis* em área urbana no Estado de São Paulo, Brasil. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 31, n. 6, p. 632-633, dez. 1997.

COSTA, C. H. N. How effective is dog culling in controlling zoonotic visceral leishmaniasis? A critical evaluation of the science, politics and ethics behind this public health policy. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v. 44, n. 2, p. 232-242, mar-abr. 2011.

DANTAS-TORRES, F. The role of dogs as reservoirs of *Leishmania* parasites, with emphasis on *Leishmania (Leishmania) infantum* and *Leishmania (Viannia) braziliensis*. **Vet. Parasitol.**, Amsterdam, v. 149, n. 3-4, p. 139-146, Nov. 2007.

DESJEUX, P. Leishmaniasis. Public health aspects and control. **Clin. Dermatol.**, New York, n. 14, p. 417–23, 1996.

DIAS, F. O. P.; LOROSA, E. S.; REBÊLO, J. M. M. Fonte alimentar sangüínea e a peridomiciliação de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Psychodidae, Phlebotominae). **Cad. Saúde Pública**, São Paulo, v. 19, n. 5, p. 1373-1380, set.-out. 2003.

FERREIRA, S. A.; ITUASSU, L. T.; MELO, M. N.; ANDRADE, A. S. Evaluation of the conjunctival swab for canine visceral leishmaniasis diagnosis by PCR-hybridization in Minas Gerais State, Brazil. **Vet. Parasitol.**, v. 152, n. 3-4, p. 257–263, Apr. 2008.

FISA, R.; GALLEGU, M.; CASTILLEJO, S.; AISA, M. J.; SERRA, T.; RIERA, C.; CARRIÓ, J.; GÁLLEGO, J.; PORTÚS, M. Epidemiology of canine leishmaniasis in Catalonia (Spain): the example of the Priorat focus. **Vet. Parasitol.**, Amsterdam, n. 83, p. 87-97, Mar. 1999.

FORATTINI, O. P.; RABELLO, E. X.; PATTOLI, D. G. B. Sobre o encontro de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912), no Estado de São Paulo, Brasil. Comunicação. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 31, n. 4, p. 99 - 100, jun. 1970.

GALATI, E. A. B. Classificação de Phlebotominae. In: RANGEL, E. F.; LAINSON, R. **Flebotomíneos do Brasil**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2003. p. 23-51.

GALATI, E. A. B.; NUNES, V. L.; REGO JUNIOR, F. A.; OSHIRO, E. T.; RODRIGUES, M. Estudo de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em foco de leishmaniose visceral no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 31, n. 4, p. 378-390, ago. 1997.

GALVIS-OVALLOS, F.; SILVA, M. D.; BISPO, G. B. S.; OLIVEIRA, A. G.; GONÇALVES NETO, J. R.; MALAFRONTA, R. S.; GALATI, E. A. B. Canine visceral leishmaniasis in the metropolitan area of São Paulo: *Pintomyia fischeri* as potential vector of *Leishmania infantum*. **Parasite**, Paris, v. 24, n. 2, p. 1-10, Jan. 2017.

GEISWEID, K.; WEBER, K.; SAUTER-LOUIS, C.; HARTMANN, K. Evaluation of a conjunctival swab polymerase chain reaction for the detection of *Leishmania infantum* in dogs in a non-endemic area. **Vet. J.**, v. 198, p. 187–192, 2013.

GOMES, Y. M.; CAVALCANTI, M. P.; LIRA, R. A.; ABATH, F. G. C.; ALVES, L. C. Diagnosis of canine visceral leishmaniasis: Biotechnological advances. **Vet. J.**, v. 175, p. 45-52, 2008.

GRIMALDI JUNIOR, G.; TEVA, A.; FERREIRA, A. L.; DOS SANTOS, C. B.; PINTO, I. D.; DE-AZEVEDO, C. T.; FALQUETO, A. Evaluation of a novel chromatographic immunoassay based on Dual-Path Platform technology (DPP® CVL rapid test) for the

serodiagnosis of canine visceral leishmaniasis. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, London, v. 106, n. 1, p. 54-9. Jan. 2012.

KASZAK, I.; PLANELLAS, M.; DWORECKA-KASZAK, B. Canine leishmaniosis – an emerging disease. **Ann. Parasitol.**, Varsóvia, v. 61, n. 2, p. 69–76, June 2015.

LAINSON, R.; RANGEL, E. F. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil - A Review. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 100, n. 8, p. 811-827, Dec. 2005.

LOMBARDO, G.; PENNISI, M. G.; LUPO, T.; MIGLIAZZO, A.; CAPRÌ, A.; SOLANO-GALLEGO, L. Detection of *Leishmania infantum* DNA by real-time PCR in canine oral and conjunctival swabs and comparison with other diagnostic techniques. **Vet. Parasit.**, Amsterdam, v. 184, p. 10–17, 2012.

LOPES, E. G.; SEVÁ, A. P.; FERREIRA, F.; NUNES, C. M.; KEID, L. B.; HIRAMOTO, R. M.; FERREIRA, H. L.; OLIVEIRA, T. M. F. S.; BIGOTTO, M. F. D.; GALVIS-OVALLOS, F.; GALATI, E. A. B.; SOARES, R. M. Serological and molecular diagnostic tests for canine visceral leishmaniasis in Brazilian endemic area: one out of five seronegative dogs are infected. **Epidemiol. Infect.**, Cambridge, v. 145, n. 12, p. 2436-2444, July 2017.

MACHADO, C. J. S.; SILVA, E. G.; VILANI, R. M. O uso de um instrumento de política de saúde pública controverso: a eutanásia de cães contaminados por leishmaniose no Brasil. **Saúde Soc.**, São Paulo, v. 25, n. 1, p. 247-258, 2016.

MAIA-ELKHOURY, A. N. S.; ALVES, W. A.; SOUSA-GOMES, M. L.; SENA, J. M.; LUNA, E. A. Visceral leishmaniasis in Brazil: trends and challenges. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 12, p. 2941-2947, Dez. 2008.

MARTÍNEZ, V.; QUILEZ, J.; SANCHEZ, A.; ROURA, X.; FRANCINO, O.; ALTET, L. Canine leishmaniasis: the key points for qPCR result interpretation. **Parasit. Vectors**, London, v. 4, n. 57, p. 1-5. Apr. 2011.

MISSAWA, N. A.; LOROSA, E. S.; DIAS, E. S. Preferência alimentar de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz e Neiva, 1912) em área de transmissão de leishmaniose visceral em

Mato Grosso. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v. 41, n. 4, p.365-368, jul./ago. 2008.

OLIVEIRA, E. F.; OSHIRO, E. T.; FERNANDES, W. S.; MURAT, P. G.; MEDEIROS, M. J.; SOUZA, A. I.; OLIVEIRA, A. G.; GALATI, E. A. B. Experimental infection and transmission of *Leishmania* by *Lutzomyia cruzi* (Diptera: Psychodidae): Aspects of the ecology of parasite-vector interactions. **PLOS Negl. Trop. Dis.**, San Francisco, v. 11, n. 02, p. 1-23, Feb. 2017.

OTRANTO, D.; DANTAS-TORRES, F. The prevention of canine leishmaniasis and its impact on public health. **Trends Parasitol.**, Oxford, v. 29, n. 7, p. 339-345, 2013.

PASSOS, V. M. A.; FALCÃO, A. L.; MARZOCHI, M. C. A.; GONTIJO, C. M. F.; DIAS, E. S.; BARBOSA-SANTOS, E. G. O.; GUERRA, H. L.; KATZ, N. Epidemiological aspects of american cutaneous leishmaniasis in a periurban area of the metropolitan region of Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 88, n. 1, p. 103-110, jan./mar. 1993.

ROMERO, G. A. S. Debate sobre o artigo de von Zuben & Donalísio. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 6, p. 1-3, jun. 2016.

SÃO PAULO - Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjak”. **Mapas Leish Visceral** Fonte: SINANNET Disponível em <http://www.saude.sp.gov.br/resources/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica/areas-de-vigilancia/doencas-de-transmissao-por-vetores-e-zoonoses/dados/leish/lv_mapas.pdf> Acesso em 02 jul. 2019a.

SÃO PAULO - Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjak”. **LVAH – Casos confirmados de Leishmaniose Visceral segundo LPI e ano de notificação, Estado de São Paulo, 2014 a 2019**; Fonte: SINANNET/Divisão de Zoonoses CVE/CCD/SES-SP e dados provisórios atualizados em 10/04/2019. Disponível em <http://www.saude.sp.gov.br/resources/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica/areas-de-vigilancia/doencas-de-transmissao-por-vetores-e-zoonoses/dados/leish/lv1419_lpi.pdf> Acesso em 10 abr. 2019b.

SHAW, J. J. Further thoughts on the use of the name *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* for the aetiological agent of American visceral leishmaniasis. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 101, n. 5, p. 577-579, Aug. 2006.

SEVÁ, A. P.; OVALLOS, F. G.; AMAKU, M.; CARRILLO, E.; MORENO, J.; GALATI, E. A. B.; LOPES, E. G.; SOARES, R. M.; FERREIRA, F. Canine-Based Strategies for Prevention and Control of Visceral Leishmaniasis in Brazil. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 11, n. 7, p. 1-20, July 2016;

SEVÁ, A. D. P.; MAO, L.; GALVIS-OVALLOS, F.; TUCKER LIMA, J. M.; VALLE, D. Risk analysis and prediction of visceral leishmaniasis dispersion in São Paulo State, Brazil. **PLOS Negl. Trop. Dis.**, San Francisco, v. 11, n. 2, p. 1-17, Feb. 2017.

SHIMABUKURO, P. H. F.; GALATI, E. A. B. Checklist dos Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) do estado de São Paulo, Brasil, com comentários sobre sua distribuição geográfica. **Biota Neotrop.**, São Paulo, v. 11, (Supl.1), p. 685-704, 2011.

SILVA, A. R.; VIANA, G. M. C.; VARONIL, C.; PIRES, B.; NASCIMENTO, M. D. S. D.; COSTA, J. M. L.; Leishmaniose visceral (calazar) na Ilha de São Luís, Maranhão, Brasil: evolução e perspectivas. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v. 30, n. 5, p. 359-368, set.-out. 1997.

SILVA, S. T. P.; MARQUES, L. D. F. V.; LAMOUNIER, K. C. C.; CASTRO, J. M.; BORJA-CABRERA, G. P. Leishmaniose visceral humana: reflexões éticas e jurídicas acerca do controle do reservatório canino no Brasil. **Rev Bio y Der.**, v. 39, p. 135-151, 2017.

SOLANO-GALLEGO, L.; KOUTINAS, A.; MIRO, G.; CARDOSO, L.; PENNISI, M. G.; FERRER, L.; BOURDEAU, P.; OLIVA, G.; BANETH, G. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. **Vet. Parasitol.**, Amsterdam, v. 165, n. 1-2, p. 1-18, May 2009.

SOLANO-GALLEGO, L.; MIRÓ, G.; KOUTINAS, A.; CARDOSO, L.; PENNISI, M. G.; FERRER, L.; BOURDEAU, P.; OLIVA, G.; BANETH, G. LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. **Parasit. Vectors**, London, v. 4, n. 86, p. 1-16, 2011.

SOLANO-GALLEGO, L.; ROSSI, L.; SCROCCARO, A. M.; MONTARSI, F.; CALDIN, M.; FURLANELLO, T.; TROTTA, M. Detection of *Leishmania infantum* DNA mainly in *Rhipicephalus sanguineus* male ticks removed from dogs living in endemic areas of canine leishmaniosis. **Parasit. Vectors**, v. 5, 1-6, May 2012.

TAUIL, P. L. Perspectivas de controle de doenças transmitidas por vetores no Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v. 39, n. 3, p. 275-277, maio-jun. 2006.

VIOL, M. A.; GUERRERO, F. D.; OLIVEIRA, B. C. M.; AQUINO, M. C. C.; LOIOLA, S. H.; MELO, G. D.; GOMES, A. H. S.; KANAMURA, C. T.; GARCIA, M. V.; ANDREOTTI, R.; LIMA, V. M. F.; BRESCIANI, K. D. S. Identification of *Leishmania* spp. promastigotes in the intestines, ovaries, and salivary glands of *Rhipicephalus sanguineus* actively infesting dogs. **Parasitol. Res.**, v. 115, n. 9, p. 3479-3484, Sep.2016.

von ZUBEN, A. P.B.; DONALÍSIO, M. R. Dificuldades na execução das diretrizes do Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral em grandes municípios brasileiros. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 6, p. 01-11, jun, 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. **Visceral leishmaniasis: control strategies and epidemiological situation update in East Africa**. Ethiopia, 9–11 March 2015. World Health Organization, Geneva, 2015.

ANEXO A - Ficha de investigação aplicadas aos tutores dos cães.

IDENTIFICAÇÃO		A /S	Quadra
1 – Data ___/___/_____		2 – Investigador: GRAZIELLA	
3 - Médico Veterinário (a): TALITA			
4 - Nome do morador / proprietário:		5 - Telefone:	
6 - Endereço completo: RUA			
IDENTIFICAÇÃO DO CÃO			
7 – Nome:		8 – Nº da amostra_____	
9 - Gênero () Macho		() Fêmea	
		10 – Idade:	
SINAIS CLINICOS			
11 - Sinais clínicos (Observado pelo Médico Veterinário (a)):			
() Linfadenomegalia		() Esplenomegalia	() Perda de peso
() Letargia		() Poliúria	() Polidípsia
() Onicogribose		() Diarreia	() Epistaxe
() Lesões oculares		() Lesões cutâneas :	
() Outros:			
RESULTADOS			
12 – DPP: () Negativo		() Positivo	
13 – ELISA:		D.O:	
14 – PCR Sangue:			
15 - PCR Swab Conjuntival:			

ANEXO B - Questionário aplicado para a obtenção de dados a cada morador participante.

IDENTIFICAÇÃO		
1 – Data ___/___/___	2 – Investigador _____	3 – nº da entrevista _____
4 - Endereço completo: _____		5 – CEP: _____
6 - Código ponto GPS :	X(Long) _____	Y(Lat) _____
7 – Nome do morador / proprietário: _____		
8 – Profissão: _____		
9 – Telefone: Fixo (<input type="checkbox"/>) _____ (<input type="checkbox"/>) não sabe (<input type="checkbox"/>) não tem Celular: (<input type="checkbox"/>) _____ (<input type="checkbox"/>) não sabe (<input type="checkbox"/>) não tem		
10 – Data da próxima visita ___/___/___	11 – Horário para próxima visita: _____	
12–Escolaridade: (<input type="checkbox"/>)1º ciclo fundamental completo (<input type="checkbox"/>)1º ciclo fundamental incompleto (<input type="checkbox"/>)2º ciclo fundamental completo (<input type="checkbox"/>)2º ciclo fundamental incompleto (<input type="checkbox"/>) Ensino médio completo (<input type="checkbox"/>) Ensino médio incompleto (<input type="checkbox"/>) Superior completo (<input type="checkbox"/>) Superior incompleto (<input type="checkbox"/>) Sem instrução		
13 – Gênero: (<input type="checkbox"/>) Feminino (<input type="checkbox"/>) Masculino (<input type="checkbox"/>) Outros		
14 – Raça/Cor: (<input type="checkbox"/>) Branca (<input type="checkbox"/>) Negro (<input type="checkbox"/>) Amarela (<input type="checkbox"/>) Parda (<input type="checkbox"/>) Indígena		
15 - Data de Nascimento ___/___/___	16- Idade: _____	
17 – Estado Civil: (<input type="checkbox"/>) Solteiro(a) (<input type="checkbox"/>) Casado(a) (<input type="checkbox"/>) União estável (<input type="checkbox"/>) Divorciado (a) (<input type="checkbox"/>) Separado (<input type="checkbox"/>) Viúvo (a)		
18 - Esta residência é: (<input type="checkbox"/>) Própria (<input type="checkbox"/>) Alugada (<input type="checkbox"/>) Cedida (<input type="checkbox"/>) Outro tipo _____		
19 - Tempo de moradia: _____		
20 – Você permanece em casa no período noturno: (<input type="checkbox"/>) Sim (<input type="checkbox"/>) Não		
21 – Nº de moradores no domicílio _____		
22 – Quantidade de residentes com as seguintes faixa etárias: (<input type="checkbox"/>) 0 a 17 anos (<input type="checkbox"/>) 18 a 30 anos (<input type="checkbox"/>) 31 a 50 anos (<input type="checkbox"/>) acima de 51 anos		
23 – Renda Familiar: (<input type="checkbox"/>) Até 1 salário mínimo (<input type="checkbox"/>) Acima de 1 até 3 salários mínimos (<input type="checkbox"/>) Acima de 3 até 5 salários mínimos (<input type="checkbox"/>) Acima de 5 até 7 salários mínimos (<input type="checkbox"/>) Acima de 7 salários mínimos (<input type="checkbox"/>) Nenhuma (<input type="checkbox"/>) Não quis responder		
CARACTERÍSTICAS DO DOMICILIO		
24 – Destino da água servida e dejetos: (<input type="checkbox"/>) Sistema de esgoto (<input type="checkbox"/>) Fossa (<input type="checkbox"/>) Céu aberto (<input type="checkbox"/>) Outros: _____		
25 – Possui água encanada? (<input type="checkbox"/>) Sim (<input type="checkbox"/>) Não		
26 – Vegetação na casa (<input type="checkbox"/>) Sim (<input type="checkbox"/>) Não		
27- Se sim, densidade de vegetação: (<input type="checkbox"/>) Alta1 (<input type="checkbox"/>) Alta 2 (<input type="checkbox"/>) Média 1 (<input type="checkbox"/>) Média 2 (<input type="checkbox"/>) Baixa 1 (<input type="checkbox"/>) Baixa 2 (<input type="checkbox"/>) Não se aplica		
28 - Coleta Urbana de lixo: (<input type="checkbox"/>) Não há coleta (<input type="checkbox"/>) Diariamente (<input type="checkbox"/>) 1 vez por semana (<input type="checkbox"/>) 2 vezes por semana (<input type="checkbox"/>) 3 vezes (<input type="checkbox"/>) Outros: _____		
29 – Tipo de parede predominante da moradia: (<input type="checkbox"/>) Alvenaria com reboco (<input type="checkbox"/>) Alvenaria sem reboco (<input type="checkbox"/>) Alvenaria com reboco/ Alvenaria sem reboco (<input type="checkbox"/>) Madeira (<input type="checkbox"/>) Meio tijolo / Meio madeira (<input type="checkbox"/>) Outros _____		

30 – Presença de anexo? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não (Se a resposta for não pular para pergunta nº 33)
31 – Anexos: <input type="checkbox"/> Quarto de despejos <input type="checkbox"/> Abrigo de animais <input type="checkbox"/> Outros _____
32 – Tipo de parede predominante no anexo: <input type="checkbox"/> alvenaria com reboco <input type="checkbox"/> alvenaria sem reboco <input type="checkbox"/> meio tijolo/ meio madeira <input type="checkbox"/> outros _____
33 – A residência possui muro? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
34 – Se sim, tipo de muro: <input type="checkbox"/> alvenaria com reboco <input type="checkbox"/> alvenaria sem reboco <input type="checkbox"/> madeira <input type="checkbox"/> arame <input type="checkbox"/> placa de concreto <input type="checkbox"/> cerca viva <input type="checkbox"/> outros _____
CONHECIMENTO SOBRE LV
35 – Você sabe o que é Leishmaniose? <input type="checkbox"/> Sim, o que é: _____ <input type="checkbox"/> Não (Se a resposta for não pular para pergunta nº 43)
36 – Quem pode ter Leishmaniose? <input type="checkbox"/> Homem <input type="checkbox"/> Cão <input type="checkbox"/> Gato <input type="checkbox"/> outros _____
37 – Você sabe como a LV é transmitida? <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> Não
38 – Se sim, como é transmitida? <input type="checkbox"/> Picada de mosquito qual? _____ <input type="checkbox"/> Água contaminada <input type="checkbox"/> Contato com animais <input type="checkbox"/> outros _____
39 – Você sabe identificar os sintomas de LV no homem? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
40 – Se sim quais os sintomas da doença no homem?: <input type="checkbox"/> Emagrecimento <input type="checkbox"/> Febre <input type="checkbox"/> Inchaço no abdômen <input type="checkbox"/> Hemorragias/sangramentos <input type="checkbox"/> Franqueza <input type="checkbox"/> Anemia <input type="checkbox"/> Outros _____
41 – Você sabe identificar os sintomas da LV no cão? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
42 - Se sim, quais os sintomas da doença no cão? <input type="checkbox"/> Queda de pelo <input type="checkbox"/> Ferida na pele <input type="checkbox"/> Unhas grandes <input type="checkbox"/> Emagrecimento <input type="checkbox"/> Secreção nos olhos <input type="checkbox"/> Perda de apetite <input type="checkbox"/> Diarreia <input type="checkbox"/> Outros _____
IDENTIFICAÇÃO DO CÃO
43- Possui cão(s) atualmente? <input type="checkbox"/> Sim, nº de cães _____ <input type="checkbox"/> Não, motivo por não ter: _____ (Se a resposta for não pular para questão nº 49)
Identificação do animal nº 1
Nome _____ Gênero <input type="checkbox"/> Masculino <input type="checkbox"/> Feminino
Raça _____ Idade: _____
O cão é: <input type="checkbox"/> Domiciliar <input type="checkbox"/> Semi domiciliado
Com qual frequência você dá banho no seu cão? <input type="checkbox"/> Semanalmente <input type="checkbox"/> quinzenalmente <input type="checkbox"/> Mensalmente <input type="checkbox"/> Não dá banho <input type="checkbox"/> Não sabe <input type="checkbox"/> Outros _____
O ambiente onde o cão é criado, é de: <input type="checkbox"/> Terra <input type="checkbox"/> Cimento <input type="checkbox"/> Terra/Cimento
Onde o cão dorme? <input type="checkbox"/> Dentro de casa <input type="checkbox"/> Fora de casa <input type="checkbox"/> Ambos os ambientes
Identificação do animal nº 2
Nome _____ Gênero <input type="checkbox"/> Masculino <input type="checkbox"/> Feminino
Raça _____ Idade: _____
O cão é: <input type="checkbox"/> Domiciliar <input type="checkbox"/> Semi domiciliado
Com qual frequência você dá banho no seu cão? <input type="checkbox"/> Semanalmente <input type="checkbox"/> quinzenalmente <input type="checkbox"/> Mensalmente <input type="checkbox"/> Não dá banho <input type="checkbox"/> Não sabe <input type="checkbox"/> Outros _____

O ambiente onde o cão é criado, é de: () Terra () Cimento () Terra/Cimento
Onde o cão dorme? () Dentro de casa () Fora de casa () Ambos os ambientes
Identificação do animal nº 3
Nome _____ Gênero () Masculino () Feminino
Raça _____ Idade: _____
O cão é: () Domiciliar () Semi domiciliado
Com qual frequência você dá banho no seu cão? () Semanalmente () quinzenalmente () Mensalmente () Não dá banho () Não sabe () Outros _____
O ambiente onde o cão é criado, é de: () Terra () Cimento () Terra/Cimento
Onde o cão dorme? () Dentro de casa () Fora de casa () Ambos os ambientes
Identificação do animal nº 4
Nome _____ Gênero () Masculino () Feminino
Raça _____ Idade: _____
O cão é: () Domiciliar () Semi domiciliado
Com qual frequência você dá banho no seu cão? () Semanalmente () quinzenalmente () Mensalmente () Não dá banho () Não sabe () Outros _____
O ambiente onde o cão é criado, é de: () Terra () Cimento () Terra/Cimento
Onde o cão dorme? () Dentro de casa () Fora de casa () Ambos os ambientes
Identificação do animal nº 5
Nome _____ Gênero () Masculino () Feminino
Raça _____ Idade: _____
O cão é: () Domiciliar () Semi domiciliado
Com qual frequência você dá banho no seu cão? () Semanalmente () quinzenalmente () Mensalmente () Não dá banho () Não sabe () Outros _____
O ambiente onde o cão é criado, é de: () Terra () Cimento () Terra/Cimento
Onde o cão dorme? () Dentro de casa () Fora de casa () Ambos os ambientes
Identificação do animal nº 6
Nome _____ Gênero () Masculino () Feminino
Raça _____ Idade: _____
O cão é: () Domiciliar () Semi domiciliado
Com qual frequência você dá banho no seu cão? () Semanalmente () quinzenalmente () Mensalmente () Não dá banho () Não sabe () Outros _____
O ambiente onde o cão é criado, é de: () Terra () Cimento () Terra/Cimento
Onde o cão dorme? () Dentro de casa () Fora de casa () Ambos os ambientes
Identificação do animal nº 7
Nome _____ Gênero () Masculino () Feminino
Raça _____ Idade: _____

O cão é: () Domiciliar () Semi domiciliado
Com qual frequência você dá banho no seu cão? () Semanalmente () quinzenalmente () Mensalmente () Não dá banho () Não sabe () Outros _____
O ambiente onde o cão é criado, é de: () Terra () Cimento () Terra/Cimento
Onde o cão dorme? () Dentro de casa () Fora de casa () Ambos os ambientes
44 – Utiliza alguma medida para evitar leishmaniose visceral nos cães? () Sim () Não
45 – Se sim o que faz? () Tela no canil () Tela nas janelas () Planta citronela no quinta () Coleira () Repelente no cão () Vacina para LVC () Usa veneno para insetos () Passa cal no quintal () Outros _____
46 - Realiza limpeza no abrigo do cão? () Sim () Não () não sabe
47 – Se sim, qual produto costuma usar? _____
48 – Se sim, Qual a frequência da limpeza do abrigo do cão? () Diariamente () 2 vezes por semana () 3 vezes por semana () semanalmente () Quinzenalmente () Mensalmente () Outros _____
49 – Sabe quais são as medidas de prevenção e controle indicada para Leishmaniose visceral canina? () Sim () Não
50 - Quais são as medidas recomendadas e dirigidas a população canina? () Realizar exame para LV nos cães () Eutanásia de cães () Uso de coleiras anti insetos () Uso de telas nos canis () Outros _____
51- Sabe quais são as medidas de prevenção e controle da LV indicada para população humana? () Sim () Não
52 - Quais as medidas de prevenção e controle dirigidas a população humana? () Proteção individual com repelente () Informação/conhecimento () Diagnostico e tratamento precoce das pessoas () Uso de telas nas janelas e portas () Outros _____
53 - Sabe quais são as medidas de prevenção e controle da LV indicada para os vetores? () Sim () Não
54 - Sabe quais as medidas de prevenção e controle dirigidas ao vetor LV? () Borrifação com inseticida () saneamento/manejo ambiental () Outros _____
55 – Como teve conhecimento da LV e das respectivas medidas de prevenção e controle? () Médico Veterinário () Agente de saúde () Jornais e Revistas () Palestras () Panfleto educativo () internet () Televisão e Rádio () conhecido/ vizinho () Formação Acadêmica/profissional () Outros _____
PREVENÇÃO
56- Teve cão com Leishmaniose? () Sim, quantos? _____ () Não () Não sabe (Se a resposta for não pular para questão nº 59)
57 – O cão com LVC foi diagnosticado por quem? () Empresa particular () Serviço público () Outros _____
58 – Se teve animal positivo para LVC, qual foi a medida tomada: () remoção de lixo e entulho () redução de plantas no quintal () recolhimento de matéria orgânica () eutanásia do animal () Não fez nada () Outros _____
59 - Seu imóvel já foi borrifado/dedetizado contra o vetor LV? () Sim () Não
60 – Cria galinha? () Sim, nº de galinhas _____ () Não (Se a resposta for não pular para questão nº 65)
61 – Se sim, qual o motivo? : () Gosta () Cria para comer () Controle de escorpião () Controle de insetos () Cria para vender () Controlar o mato do quintal () Outros _____

62 – As galinhas dormem em qual local? () Galinheiro () Poleiro () Árvores () Viveiro () Gaiola () Dentro de casa () Outros _____
63 - Com qual frequência é realizada a limpeza do ambiente em que as galinhas dormem? () Diariamente () 2 vezes por semana () 3 vezes por semana () semanalmente () Quinzenalmente () Mensalmente () Não Limpa
64 – O que faz com as fezes recolhidas das galinhas? () coloca nas plantas () dá para conhecidos como utilizar como adubos () junta no fundo do quintal () enterra () coloca no lixo () outros _____
65 – Você cria gato? () Sim, nº de gatos _____ () Não (Se a resposta for não pular para questão nº 70)
66 – Se sim, qual o motivo? () Companhia () Outros _____
67 – Em qual ambiente o gato dorme? () Fora de casa () Dentro de casa () Ambos os ambientes
68 – Onde os gatos defecam? () Caixa de areia () Quintal, em qualquer lugar () Quintal, em local específico () Outros _____
69 - Com qual frequência é realizada a limpeza do ambiente em que os gatos dormem? () Diariamente () 2 vezes por semana () 3 vezes por semana () semanalmente () Quinzenalmente () Mensalmente () Não Limpa
70 - Você cria outros animais diferentes dos citados anteriormente? () Sim () Não
71 – Se sim, coloque a QUANTIDADE na frente de cada animal que você cria: () Porco () Cavalo () Pássaro () Patos () Ganso () Coelho () Outros _____
72 - Na sua opinião, sua moradia traz algum risco para a ocorrência de LV? () Sim, qual? _____ () Não, Porque? _____

ANEXO C – Comitê de Ética Animal



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"



CAMPUS ARAÇATUBA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
CEUA - Ethics Committee on the Use of Animals

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado "**Ações de prevenção e controle da leishmaniose visceral canina e humana, numa perspectiva transdisciplinar, no Município de Araçatuba, São Paulo, Brasil**", Processo FOA nº 00870-2016, sob responsabilidade de Kátia Denise Saraiva Bresciani apresenta um protocolo experimental de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal e sua execução foi aprovada pela CEUA em 17 de Maio de 2017.

VALIDADE DESTE CERTIFICADO: 04 de Janeiro de 2020.

DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL: até 04 de Fevereiro de 2020.

CERTIFICATE

We certify that the study entitled "**Prevention and control of canine and human visceral leishmaniasis, a transdisciplinary perspective, in the Municipality of Araçatuba, São Paulo, Brazil**", Protocol FOA nº 00870-2016, under the supervision of Kátia Denise Saraiva Bresciani presents an experimental protocol in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation and its implementation was approved by CEUA on May 17, 2017.

VALIDITY OF THIS CERTIFICATE: January 04, 2020.

DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT: February 04, 2020.

Prof. Ass. Dr. Leonardo Perez Faverani
Coordenador da CEUA
CEUA Coordinator

ANEXO D – Comitê de Ética em Pesquisa

UNESP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA-CAMPUS DE
ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Prevenção e controle da leishmaniose visceral, no Município de Araçatuba, São Paulo, Brasil.

Pesquisador: Graziella Borges Alves

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 61241216.4.0000.5420

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.006.309

Apresentação do Projeto:

Com o projeto de pesquisa pretende-se prevenir e controlar a leishmaniose visceral (LV) canina e humana, numa perspectiva transdisciplinar, na área urbana do Município de Araçatuba, São Paulo. O estudo será caracterizado como exploratório e descritivo, com observação de alguns fenômenos imensuráveis e quantitativa. Exploratório por apresentar características de determinada população e da relação entre o seu conhecimento e o comportamento relacionados ao fenômeno de prevenção e controle do LV, permitindo a compreensão das representações comunitárias. A pesquisa ocorrerá no período de Janeiro de 2017 a Dezembro de 2021, totalizando 60 meses. Serão selecionadas por amostragem 36 casas (Pesquisa Entomológica Unidade de Monitoramento Mensal - PEUMM) e mais uma casa vizinha da PEUMM como controle, com presença de animais domésticos e outros fatores ambientais de riscos, totalizando 72 casas. O responsável pelo imóvel será submetido a uma avaliação (questionário) sobre o seu conhecimento a respeito da leishmaniose visceral canina e humana (LVCH) com uma abordagem educativa (orientação quanto as medidas preventivas através de cartilhas ilustradas, folders e dialogo), o cadastro do imóvel e a caracterização sócio demográfica. Os dados obtidos serão processados pelo programa EPI INFO versão 7, onde será calculada a prevalência e a razão de prevalência (RP) de cada variável presente nos questionários. A variação sazonal das espécies deverá ser analisada com os dados obtidos por

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193
Bairro: VILA MENDONCA **CEP:** 16.015-050
UF: SP **Município:** ARACATUBA
Telefone: (18)3636-3200 **Fax:** (18)3636-3332 **E-mail:** andrebertoz@foa.unesp.br

UNESP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA-CAMPUS DE
ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 2.006.309

um termohigrômetro e um pluviômetro instalado em cada casa e a concordância entre as técnicas diagnósticas será avaliada por meio do coeficiente de concordância Kappa e interpretado segundo a classificação de Landis e Koch (1977).

Objetivo da Pesquisa:

Com o trabalho objetiva-se instituir ações de prevenção e controle da leishmaniose visceral canina e humana (LVCH), numa perspectiva transdisciplinar, na área urbana do Município de Araçatuba, SP. Além disso pretende-se avaliar o grau de conhecimento dos moradores sobre os aspectos da LVCH, caracterizar as condições socioeconômicas, demográficas e ambientais das famílias participantes, realizar ações de educação em saúde e de cuidado ambiental, descrever as dinâmicas dos moradores e seu impacto na ecologia do vetor e nos esforços de controle da doença, analisar a resposta dos moradores, em termos de conscientização da responsabilidade dos indivíduos e da proposta de ações de prevenção e controle da LV, realizar capturas entomológicas de flebotomíneos, analisar a sazonalidade de *Lutzomyia longipalpis* na área estudada, avaliar a densidade e o hábito alimentar das fêmeas de *Lu. Longipalpis* e monitorar os cães residentes nas casas.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos da pesquisa são mínimos, uma vez que as participantes da pesquisa serão submetidas a uma entrevista afim de se estabelecer o grau de conhecimento a respeito da LVCH e participarão de atividades educativas. Com relação aos benefícios, serão realizadas capturas entomológicas para identificação de flebotomíneos vetor da leishmaniose, haverá o acompanhamento clínico dos cães dos moradores, bem como o encoleiramento, com coleiras que previne leishmaniose visceral canina. Soma-se a isso todo o trabalho de conscientização dos moradores quanto aos cuidados ambientais em sua residência.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de estudo que visa realizar uma avaliação ambiental e sócio educativa e instituir ações de prevenção e controle da leishmaniose visceral canina e humana (LVCH), numa perspectiva transdisciplinar, na área urbana do Município de Araçatuba, São Paulo, Brasil.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos de apresentação obrigatória foram anexados adequadamente.

Recomendações:

Não Há

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193
Bairro: VILA MENDONCA CEP: 16.015-050
UF: SP Município: ARACATUBA
Telefone: (18)3636-3200 Fax: (18)3636-3332 E-mail: andrebertoz@foa.unesp.br

UNESP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA-CAMPUS DE
ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 2.006.309

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Após a avaliação da metodologia proposta bem como dos documentos anexos somos favoráveis à execução do mesmo uma vez que a metodologia apresentada atende as normas da Resolução 466/12.

Considerações Finais a critério do CEP:

O CEP acata o parecer do relator. Informamos ao(a) senhor(a) pesquisador(a) que de acordo com a Resolução 466 CNS, de 12/12/2012 (título X, seção X.1., art. 3, item b, e, título XI, seção XI.2., item d), há necessidade de apresentação de relatórios semestrais, devendo o primeiro relatório ser enviado até 31/09/2017. O CEP reitera a necessidade de entrega de uma via (não cópia) do TCLE ao sujeito participante da pesquisa e solicita ao pesquisador responsável leitura da carta circular 003/2011 CONEP/CNS antes do início do projeto.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_762742.pdf	01/02/2017 23:42:37		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_CEH.pdf	01/02/2017 23:35:34	Graziella Borges Alves	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_resolucao_466.doc	01/02/2017 23:33:41	Graziella Borges Alves	Aceito
Outros	Anexo_C.xls	10/10/2016 21:28:23	Graziella Borges Alves	Aceito
Outros	Anexo_B.xls	10/10/2016 21:27:52	Graziella Borges Alves	Aceito
Outros	Anexo_A.docx	10/10/2016 21:27:09	Graziella Borges Alves	Aceito
Folha de Rosto	Folhaderosto_CEP.pdf	10/10/2016 21:26:26	Graziella Borges Alves	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193
Bairro: VILA MENDONCA CEP: 16.015-050
UF: SP Município: ARACATUBA
Telefone: (18)3636-3200 Fax: (18)3636-3332 E-mail: andrebertoz@foa.unesp.br

UNESP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA-CAMPUS DE
ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 2.006.309

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

ARACATUBA, 07 de Abril de 2017

Assinado por:
André Pinheiro de Magalhães Bertoz
(Coordenador)

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193
Bairro: VILA MENDONCA **CEP:** 16.015-050
UF: SP **Município:** ARACATUBA
Telefone: (18)3636-3200 **Fax:** (18)3636-3332 **E-mail:** andrebertoz@foa.unesp.br