UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba

ANDREY MARANA BOTEGA

CORRELAÇÃO ENTRE A REATIVIDADE SOROLÓGICA EM CÃES FRENTE À TRIPANOSSOMÍASE E A LEISHMANIOSE

ARAÇATUBA – SP
2022

ANDREY MARANA BOTEGA

CORRELAÇÃO ENTRE A REATIVIDADE SOROLÓGICA EM CÃES FRENTE À TRIPANOSSOMÍASE E A LEISHMANIOSE

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária – Unesp, Campus de Araçatuba, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal (Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal)

Orientadora: Prof.ª. Ass Dra. Márcia Marinho
Co-orientador Prof. Ass Dr. Manoel Garcia Neto

ARAÇATUBA – SP
2022

B748c

Botega, Andrey Marana

Correlação entre a reatividade sorológica em cães frente à tripanossomíase e a leishmaniose / Andrey Marana Botega. -- Araçatuba, 2022

108 f.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba

Orientadora: Márcia Marinho

Coorientador: Manoel Garcia Neto

1. Anticorpos anti-Leishamania spp. 2. Anticorpos anti- T.cruzi. 3. Reação cruzada. 4. Modelo de equação estrutural. 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: CORRELAÇÃO ENTRE A REATIVIDADE SOROLÓGICA EM CÃES FRENTE À TRIPANOSSOMÍASE E A LEISHMANIOSE

AUTOR: ANDREY MARANA BOTÊGA
ORIENTADORA: MÁRCIA MARINHO
COORIENTADOR: MANOEL GARCIA NETO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência Animal, área: Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. MÁRCIA MARINHO (Participaçao Presencial)
Departamento de Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Profa. Dra. LUZIA HELENA QUEIROZ (Participaçao Presencial)
Aposentada da Faculdade de Medicina Veterinária / Campus de Araçatuba/UNESP

Profa.Dra. SIMONE BALDINI LUCHEIS (Participaçao Virtual)
Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva / Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Câmpus de Botucatu/UNESP

Araçatuba, 07 de dezembro de 2022.

unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araçatuba

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: CORRELAÇÃO ENTRE A REATIVIDADE SOROLÓGICA EM CÃES FRENTE À TRIPANOSSOMÍASE E A LEISHMANIOSE

AUTOR: ANDREY MARANA BOTÊGA
ORIENTADORA: MÁRCIA MARINHO
COORIENTADOR: MANOEL GARCIA NETO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência Animal, área: Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. MÁRCIA MARINHO (Participaçao Presencial)
Departamento de Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Profa. Dra. LUZIA HELENA QUEIROZ (Participaçao Presencial)
Aposentada da Faculdade de Medicina Veterinária / Campus de Araçatuba/UNESP

Profa.Dra. SIMONE BALDINI LUCHEIS (Participaçao Virtual)
Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva / Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Câmpus de Botucatu/UNESP

Araçatuba, 07 de dezembro de 2022.

Scanned with CamScanner

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Angelo Marana Botega e Catarina Rodrigues da Silva Botega e a minha avó Mavília de Souza Gaspar, que zelam por mim

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus pela vida e por nunca me desamparar e me dar forças para seguir meu caminho.

A minha mãe Catarina R. S. Botega e ao meu pai Angelo M. Botega pelo apoio e por acreditar em mim e fornecer meios para meu desenvolvimento profissional.

A minha vó Mavília de Souza Gaspar por ter me educado e ensinado valores.

Aos meus irmãos, especialmente Alessandra e a Adriele pelo apoio emocional e por não terem deixado eu desistir; a Reni minha irmã, com quem aprendi a questionar o que acho errado e a lutar pelo que acredito.

As minhas cachorras Maggie Roberta e a Milú Helena por terem feito parte da minha vida.

Agradeço também a minha querida orientadora Dra. Márcia Marinho, por sua sabedoria, orientação e pelo apoio emocional, não é só uma orientadora, também é uma amiga.

Ao Prof. Dr. Manoel Garcia Neto, meu co-orientador por sua valorosa contribuição à minha formação e a finalização do projeto.

Aos Integrantes da Banca, Dra. Simone, Dra. Luzia e Dra. Gisele por participar da minha trajetória.

Aos Amigos, Idemar, Samira e a Renata, por estarem presentes e me lembrarem que não estou sozinho, especialmente Douglas Carvalho, mesmo distante é um grande amigo e confidente.

A minha psicóloga Cátia N. Santana pelo cuidado e apoio emocional.

Ao Instituto Adolfo Lutz e a Eliana por ceder os testes para o estudo.

Também agradeço a CAPES pelo apoio financeiro.

Ao Laboratório de Zoonoses do Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva da UNESP/FMVZ e as residentes Rafaela e a Gabrielle.

A equipe do Laboratório de Microbiologia do DAPSA/FMVA, obrigado Cilene!

Agradeço a Cristina da biblioteca da UNESP/FMVA, pela atenção e dicas.

A faculdade UNESP/FMVA, muito obrigado!

"Nunca despreze as pessoas deprimidas.
A depressão é o último estágio da dor humana."

Augusto Cury

BOTEGA, A. M. **Correlação entre a reatividade sorológica em cães frente à tripanossomíase e a leishmaniose**. 2022. 59 f. Dissertação (Mestrado)-Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2022.

RESUMO

A Leishmaniose e a Doença de Chagas caracterizam-se em enfermidades parasitárias de ampla distribuição mundial causadas por protozoários do gênero *Leishmania spp*. e *Trypanosoma cruzi*, e que devido a homogeneidade filogenética compartilham de anticorpos de superfície podendo acarretar reações cruzadas frente aos testes sorológicos utilizados na rotina do diagnóstico das enfermidades. O presente trabalho teve por objetivos, utilizar a modelagem matemática afim de correlacionar e associar os resultados das reações cruzadas frente aos fatores de risco de animais sororreativos a *Leishmania spp* e a *Trypanosoma cruzi,* analisar a ocorrência da sororreatividade cruzada entre os antígenos de *Leishmania spp* e *Trypanosoma cruzi* em amostras de soro de cães quando submetidos aos testes sorológicos RIFI, DPP e Elisa, verificando ainda as possíveis correlações e associações entre às múltiplas variáveis observáveis e os fatores de risco sobre a sororreatividade Pelo exposto concluiu-se que houve presença de sororreatividade cruzada entre os antígenos de *Leishmania spp* e *Trypanosoma cruzi,* em amostras de soro reagentes para Leishmaniose de cães provenientes da região noroeste de São Paulo, analisadas durante o periodo de 2017-2020. O teste de Elisa, o bairro e o sinais clinicos constituíram fatores de risco frente a presença de anticorpos anti-*Leishmania spp e anti- T.cruzi*. A variável latente apresentou influência maior para RIFI *T. cruzi* do que para RIFI *Leishmania spp* havendo a correlação entre a variável observável frente a sororreatividade dos resultados apresentados e o modelo de equação estrutural mostrou ser uma excelente ferramenta a análise dos dados.

Palavras-chave: Anticorpos *anti-Leishamania* spp. Anticorpos *anti-T.cruzi.* Reação cruzada. Modelo de equação estrutural.

BOTEGA, A. M. **Correlation between serological reactivity in dogs against trypanosomiasis and leishmaniasis**. 2022. 59 f. Dissertação (Mestrado)-Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2022.

ABSTRACT

Leishmaniasis and Chagas disease are characterized by parasitic diseases of wide worldwide distribution caused by protozoa of the genus *Leishmania* spp. and *Trypanosoma cruzi*, and that, due to phylogenetic homogeneity, share surface antibodies, which may cause cross-reactions in the face of serological tests used in the routine diagnosis of diseases. The present study aimed to analyze the occurrence of cross-seroreactivity between *Leishmania spp* and *Trypanosoma cruzi* antigens in serum samples from dogs when submitted to RIFI, DPP and Elisa serological tests, also verifying the possible correlations and associations between the multiple variables observables and risk factors on seroreactivity using mathematical modeling. Based on the above, it was concluded that there was cross-seroreactivity between the antigens of *Leishmania* spp and *Trypanosoma cruzi*, in serum samples reactive for Leishmaniasis of dogs from the northwest region of São Paulo, analyzed during the period 2017-2020. The Elisa test, the neighborhood and the clinical signs constituted risk factors for the presence of anti-*Leishmania* spp and anti-*T.cruzi* antibodies. The latent variable had a greater influence for IFRS *T. cruzi* than for IFRS *Leishmania* spp. There was a correlation between the observable variable and the seroreactivity of the results presented, and the structural equation model proved to be an excellent tool for data analysis.

Keywords: Anti-*Leishamania* spp antibodies. Anti-*T.cruzi* antibodies. Cross-reaction. Structural equation model.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Apresentação da distribuição espacial da área em função da sorreatividade dos cães frente aos protozoários da Região noroeste do estado de São Paulo, período 2017 a 2020 35

Figura 2 - Resultados das amostras de soro de cães provenientes da região noroeste do estado de SP no período de 2017 a 2020 frente a matriz de correlação que expressaram anticorpos anti-*Leishmania spp*. e anti-*Trypanosoma* 40

Figura 3 - O diagrama de Venn: ilustração das variâncias: *T. cruzi* (T) e *Leishmania spp.* (L) e suas relações com um fator latente (Reação cruzada (RC)) 48

Figura 4 - Diagrama da técnica de Modelagem em Equações Estruturais (SEM) demonstrando a influência das variáveis sobre a ocorrência reatividade para *Leishmania spp e T. cruz* período de 2018 – 2020..... 49

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Resultados do diagnóstico para LVC e doença de Chagas segundo as técnicas sorológicas e os municípios da região noroeste de São Paulo, 2017-2020 38

TABELA 2 – Concordância dos resultados expressos e comparados entre ELISA e RIFI para *Leishmania spp., sendo o* total 1 e 2 referentes aos resultados obtidos no teste ELISA e RIFI, respectivamente 39

TABELA 3 – Resultado da associação a variável sexo e a presença de anticorpos *anti-Leishmania spp* e *anti-T. cruzi*.....41

TABELA 4 – Resultados da associação entre a variável raça e a presença de anticorpos anti- *Leishmania spp* e anti-*T. cruzi* em amostras de cães da região noroeste do estado de São Paulo, período de 2017-2020.....42

TABELA 5 – Associação entre as variáveis sinais clínicos e presença de anticorpos anti–*Leishmania* spp pela técnica de DPP+ELISA 43

TABELA 6 – Associação entre as variáveis sinais clínicos e RIFI – *Leishmania* spp.....44

TABELA 7 – Associação entre as variáveis sinais clínicos e presença de anticorpos anti–*Trypanosoma cruzi* pela RIFI 45

TABELA 8 – Distribuição dos sinais clínicos em cães reagentes aos testes no período de 2017-2020 45

TABELA 9 – Distribuição e efeito o entre a faixa etária e a presença de anticorpos *anti- Leishmania* spp e *T. cruzi* em amostras de cães da região noroeste do estado de São Paulo, período de 2017-2020 46

LISTA DE ABREVIATURAS

DC	Doença de Chagas
DPP	Dual Path Platform
ELISA	Ensaio Imunossorvente Ligado à Enzima
et al	E outros
LTA	Leishmaniose tegumentar americana
LTC	Leishmaniose tegumentar canina
LV	Leishmaniose visceral
LVC	Leishmaniose Visceral Canina
LVH	Leishmaniose visceral humana
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAHO	Organização Pan-Americana da saúde
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
SEM	Modelo de equação estrutural
Spp	Espécies
TR	Teste rápido
UNESP	Universidade Estadual Paulista
WHO	World Health Organization
X^2	Qui-quadrado

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 15
2 REVISÃO DE LITERATURA 19
2.1 Leishmaniose Visceral Canina (LVC) 19
2.1.1 Etiologia 19
2.1.2 Ciclo Evolutivo 19
2.1.3 Epidemiologia 20
2.1.4 Sinais Clínicos 22
2.1.5 Diagnóstico 22
2.2 Doença de Chagas 25
2.2.1 Etiologia 25
2.2.2 Ciclo evolutivo 26
2.2.3 Epidemiologia 26
2.2.4 Sinais Clínicos 27
2.2.5 Diagnóstico 28
2.3 Reação cruzada 29
2.4 Analise Estatística 30
2.4.1 Modelos de Equações Estruturais (SEM) 30
2.4.2 Índice Kappa de Cohen 31
2.4.3 Distribuição Qui-quadrado (X^2) 32
2.4.4 Coeficiente de correlação de Spearman 32
2.4.5 U de Mann-Whitney 33
2.5 Proposição 33
2.6 Objetivos 33
2.6.1 Objetivo geral 33
2.6.2 Objetivos específicos 34
3 MATERIAL E MÉTODOS 35
3.1 Amostras 35
3.2 Provas sorológicas 35
3.2.1 Para Leishmaniose Visceral Canina 35
3.2.2 Para Doença de Chagas 36
3.3 Análise Estatística 36
4 Resultados 38
4.1 Pesquisa de anticorpos 38
4.2 Reações cruzadas para anticorpo anti-*Leishmania spp.* e anti-*Trypanosoma cruzi* pela de Reação de Imunofluorescência Indireta(RIFI) 39
4.2.1 Associação entre a presença de sinais clínicos e a presença de anticorpos *anti – Leishmania spp* pelos testes de ELISA e DPP 43

4.2.2 Associação entre a presença de sinais clínicos e a presença de anticorpos anti – *Leishmania spp* pela RIFI 44
4.2.3 Associação entre a presença de sinais clínicos e a presença de anticorpos *anti –T. cruzi* a RIFI.....44
4.2.4 Associação entre a faixa etária e a presença de anticorpos anti-*Leishmania spp* e anti-*Tryanosoma cruzi* 45
4.3 Análise da Reação Cruzada.....46
5 DISCUSSÃO 50
6 CONCLUSÃO 56
REFERÊNCIAS 57
ANEXO A – RESULTADOS DAS PROVAS SOROLÓGICAS 72
ANEXO B – RESULTADOS DA ANÁLISE ESTATÍSTICA 78
ANEXO C – MODELO DE EQUAÇÃO ESTRUTURAL 95

1 INTRODUÇÃO

A Leishmaniose Visceral (LV) é considerada um grave problema de saúde pública no mundo sendo reconhecida pela Organização Mundial da Saúde como uma das dezessete "Doenças Tropicais Negligenciadas" (SILVA, 2016). É também uma das sete endemias mundiais, apresentando de 700 mil a 1 milhão de novos casos a cada ano, responsável anualmente por 20.000 a 30.000 mil óbitos (WHO, 2022). Possui maior ocorrência nos países pobres, atingindo as populações mais vulneráveis e com difícil acesso aos serviços de saúde (OPAS, 2019).

Conhecida como calazar, esplenomegalia tropical, febre *dundun*, dentre outras denominações menos conhecidas, a leishmaniose visceral tem uma ampla distribuição, ocorrendo na Ásia, na Europa, no Oriente Médio, na África e nas Américas (BRASIL, 2006). Segundo Montalvo et al. (2012), 90% dos casos de LV ocorrem em países onde existe grande parte da população em situação de pobreza (Índia, Bangladesh, Nepal, Sudão e Brasil).

Na América do Sul, o primeiro caso da doença foi descrita no Brasil em 1913; Migone, no Paraguai, descreveu o caso em material de necrópsia de paciente oriundo de Boa Esperança, Mato Grosso (ALENCAR et al., 1991). A partir de um estudo realizado para o diagnóstico e distribuição da febre amarela no Brasil, encontraram-se 41 casos positivos para *Leishmania*, que foram identificados em lâminas de viscerotomias praticadas *post-mortem*, em indivíduos oriundos das regiões Norte e Nordeste (PENNA et al, 1934). A seguir, o *Lutzomyia longipalpis* foi incriminado como espécie vetora e foram descobertos os primeiros casos da infecção em cães (BRASIL, 2006). A distribuição geográfica possui íntima relação com movimentos populacionais, disponibilidade de reservatórios, modificações ambientais, baixa condição econômica e distribuição geográfica do vetor (BASTOS; MADRID; LINHARES, 2015). Desde então, a transmissão da doença vem sendo descrita em vários municípios, de todas as regiões do Brasil. A partir dos anos 90, os estados

Pará e Tocantins (região Norte), Mato Grosso do Sul (região Centro Oeste) e Minas Gerais e São Paulo (região Sudeste) passaram a influir de maneira significativa nas estatísticas da LV no Brasil (GONTIJO; MELO, 2004). Em 2017, os estados com maior índice de registro de Leishmaniose Visceral foram Minas Gerais, Maranhão, Pará e Ceará (BRASIL, 2019).

No estado de São Paulo em 1998, foi identificada, pela primeira vez, a leishmaniose visceral canina (LVC) no Município de Araçatuba, região oeste do estado (LUVIZOTTO et al., 1999). Posteriormente, foi disseminada para Birigui e outras cidades da região administrativa de Araçatuba. No período entre 2003 e 2007, a doença seguiu curso de expansão para o sudeste, afetando os municípios cortados pela rodovia Marechal Rondon (CARDIM et al., 2016).

Em 2019, foram confirmados 2.529 casos novos de LV no Brasil, com uma taxa de incidência de 1,2 casos a cada 100 mil habitantes. A taxa de letalidade por LV em 2019 foi de 9%, sendo a mais elevada dos últimos 10 anos (BRASIL, 2021).

A doença de Chagas, também conhecida como tripanossomíase americana, é uma zoonose potencialmente fatal, de grande importância epidemiológica no Brasil. A doença de Chagas leva o nome de Carlos Ribeiro Justiniano Chagas, médico e pesquisador brasileiro que descobriu a doença em 1909. (WHO, 2020). É uma infecção causada pelo protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi*, cujo o ciclo de vida inclui a passagem obrigatória por vários hospedeiros mamíferos, para os quais são transmitidos pelos insetos vetores denominados triatomíneos. Estes são insetos hematófagos, sendo mais importantes epidemiologicamente os do gênero *Panstrongylus*, *Triatoma e Rhodnius,* conhecidos popularmente como barbeiros (GALVÃO, 2014).

Os triatomíneos abrigam-se em locais muito próximos à fonte de alimento e podem ser encontrados em áreas de mata, escondidos em ninhos de pássaros, tocas de animais, cascas de tronco de árvore, montes de lenha e embaixo de pedras. Nas casas, escondem-se nas frestas, buracos das paredes, nas camas, colchões e baús, além de serem

encontrados em galinheiro, chiqueiro, paiol, curral e depósitos (BRASIL, 2005).

Animais silvestres e domésticos são incriminados como importantes reservatórios e colaboradores na transmissão da doença, porém os cães são descritos como o reservatório e a única espécie capaz de desenvolver alterações patológicas crônicas, semelhantes àquelas detectadas em humanos, podendo apresentar insuficiência cardíaca congestiva (SOUZA et. al., 2008).

Os vetores e o agente etiológico da doença de Chagas estão amplamente distribuídos desde o sul dos Estados Unidos até a Argentina e o Chile (ARGOLO et al., 2008).

Desse modo, estima-se, numa escala mundial, que haja 6 milhões de pessoas infectadas em 21 países da América Latina, de 6 a 7 milhões no restante do mundo e calcula-se que 70 milhões de pessoas estejam em risco de contrair a doença. A doença de Chagas é encontrada principalmente em áreas endêmicas de 21 países continentais da América Latina, onde é transmitida aos seres humanos principalmente pelo contato com fezes ou urina do inseto barbeiro (DNDIAL, 2021).

Segundo Paho (2009 apud SILVA, 2019, p. 743), no Brasil, quase quatro décadas após a consolidação das ações de controle vetorial, indicadores operacionais de campo, como índices de dispersão e infestação domiciliar, mostram que a principal espécie vetora, *Triatoma infestans,* está restrita a pequenos focos residuais de pouca importância epidemiológica no noroeste do estado do Rio Grande do Sul e no oeste do estado da Bahia. Neste contexto, em junho de 2006, a Organização Panamericana de Saúde forneceu ao Brasil o Certificado Internacional de Eliminação da Transmissão da Doença de Chagas por essa espécie (PAHO, 2009).

Troncarelli et al. (2009) destacam que a *Leishmania spp.* e *T. cruzi* são agentes que pertencem à família *Trypanosomatidae* e compartilham vários antígenos, que causam reação cruzada no diagnóstico sorológico; sendo assim, para o diagnóstico sorológico preciso

da LVC, deve-se considerar a doença de Chagas como diagnóstico diferencial. Deve–se atentar principalmente para os sintomas do animal (se este os apresenta) como também para os aspectos epidemiológicos, tais como a procedência do animal, se o mesmo provém de área endêmica ou não, tanto para leishmaniose como para doença de Chagas.

Deve-se considerar se há ainda, presença de vetores como: flebotomíneos, e triatomíneos no caso da leishmaniose e da doença de Chagas, respectivamente. E, também, se há a possibilidade do contato do cão com os animais silvestres, já que estes também são considerados reservatórios importantes, tanto para a *Leishmania spp. quanto* para o *T. cruzi*. No caso de haver reações cruzadas entre *T. cruzi* e *Leishmania spp.,* deve-se levar em consideração o resultado sorológico, associado aos fatores clínicos e epidemiológicos, bem como a utilização de outros instrumentos para o diagnóstico diferencial (TRONCARELLI et al., 2009; GALVÃO, 2014).

A infecção por *Trypanosoma caninum* também pode interferir no resultado dos testes de RIFI e ELISA para LVC. A literatura mostra que os índices de especificidade dos testes comerciais encontrados para o diagnóstico da LVC (RIFI-LVC, ELISA-LVC e DPP) tornaram-se mais elevados quando o grupo de animais infectados por *T. caninum* foi excluído das análises, demonstrando que a presença desses animais nas áreas endêmicas de LV pode interferir nos parâmetros de validade desses testes (ALVES, 2012).

Há um consenso na literatura clínica compulsada sobre a necessidade de ser realizado o diagnóstico diferencial entre os casos suspeitos para leishmaniose visceral canina e de outras enfermidades como: Erlichiose, Babesiose, Toxoplasmose, Demodicose e Doença de chagas (LIRA, 2005; NUNES, 2015).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Leishmaniose Visceral Canina (LVC)

2.1.1 Etiologia

As Leishmanioses são antropozoonoses que se constituem em um grande problema de saúde pública, representando um complexo de doenças com importantes espectros e diversidades epidemiológicas. A leishmaniose é considerada uma das cinco doenças infecto-parasitárias endêmicas de maior relevância mundial (CARDOSO et al., 2015).

A leishmaniose visceral (LV) é causada por protozoários pertencentes à ordem Knetoplastida, família Trypanosomatidae e gênero *Leishmania*. (MARTINS et al., 2015). De acordo com Lukes et al. (2007) o agente etiológico da LV são as leishmanias do complexo *donovani, sendo elas L. donovani e L. infantum*. Os vetores responsáveis pela transmissão dos protozoários são os flebotomíneos dos gêneros *Phlebotomus* e *Lutzomyia*. No Brasil, o principal representante é o *L. longipalpis e L. cruzi* (ROCHAS, 2019). A transmissão ocorre através da picada de um mosquito fêmea hematófago, conhecido popularmente por mosquito-palha, Birigui ou Tatuquiras (COSTA, 2011).

Os principais reservatórios são os cães, na área urbana, e, no ambiente silvestre, as raposas, os marsupiais e os roedores silvestres (BRASIL, 2016).

2.1.2 Ciclo Evolutivo

A *Leishmania* é um organismo pleomórfico, ou seja, apresenta duas formas morfológicas de acordo com o hospedeiro. A forma flagelada, denominada de promastigota, encontra-se nos hospedeiros invertebrados, enquanto que a forma aflagelada, amastigota, encontra-se presente nos hospedeiros vertebrados (MARTINS et al., 2015).

O vetor, ao picar um animal infectado, ingere macrófagos contendo as formas amastigotas, que, no intestino do flebotomínio, após sofrerem divisões sucessivas amadurecem, originando novas formas, a saber: Promastigotas, paramastigotas e metacíclicas infectantes que, após um novo repasto sanguíneo,os vetores infectam outro hospedeiro vertebrado com a forma promastigota metacíclica. A transformação da promastigota em amastigota ocorre no macrófago, aproximadamente entre 12 a 24 horas após a inoculação. Os parasitas que se multiplicam acabam destruindo os macrófagos, liberando as formas amastigotas que poderão infectar outras células (BRIFFOD, 2011).

2.1.3 Epidemiologia

A leishmaniose visceral (LV) tem mundial ocorrendo e na América Latina, já foi descrita em pelo menos 12 países, sendo que 90% dos casos ocorrem no Brasil, especialmente na Região Nordeste (BRASIL, 2006).

No estado de São Paulo, a série histórica de casos de leishmaniose visceral inicia-se em 1999, tendo como porta de entrada a região oeste e expande-se para outras regiões, processo ainda em curso. A melhor compreensão desse processo e a identificação de fatores determinantes podem facilitar a adoção de ações de vigilância e controle efetivas, evitando que a leishmaniose visceral se espalhe por todo o território paulista ou, ao menos, diminuindo sua velocidade de expansão (CARDIM et al., 2016).

No período entre 2003 e 2007, a doença segue seu curso de expansão para o sudeste. Na região de saúde de Bauru, os primeiros atingidos foram Bauru, Guaiçara e Lins e, na região de Marília, foi Guarantã, em 2003; todos esses municípios são cortados pela rodovia Marechal Rondon. Entre 2004 e 2007, sete municípios desta região detectaram Leishmaniose Visceral Humana (LVH), sendo seis (Promissão, em 2004; Avaí, em 2005; Agudos e Pirajuí, em 2006; e Cafelândia e

Lençóis Paulista, em 2007) cortados pela mesma rodovia. Dos 26 municípios cortados pela Marechal Rondon, localizados na área de estudo, entre o extremo oeste (Castilho) e Lençóis Paulista, apenas três não mostraram ocorrência de LVC entre 1999 e 2007 (Rubiácea e Glicério, na região de saúde de Araçatuba, e Presidente Alves, na região de Bauru) (CARDIM et al., 2016).

Destaca-se que, entre 1999 e 2013, foram notificados 2.324 casos e 200 óbitos por LVH em São Paulo, concentrados em cinco regiões de saúde e com 80 municípios afetados, correspondendo, respectivamente, à incidência e mortalidade de 2,8 casos e 0,2 óbitos por 100 mil habitantes-ano e à letalidade de 8,6%. Dos casos notificados, 97,4% ocorreram na área urbana e 2,4% na rural (0,2% não tinham esta informação), correspondendo, respectivamente, às incidências de 3,0 e 0,8 casos por 100 mil habitantes-ano (CARDIM et al., 2016).

As incidências foram maiores nos homens do que em mulheres. A faixa etária de maior incidência foi a de zero a quatro anos, seguida pelas faixas de 60 anos ou mais, 40 a 59, 5 a 19 e 20 a 29 (CARDIM et al., 2016).

Por fim, pode-se concluir que, a migração em geral desencadeada por questões socioeconômicas, tem sido apontada como um dos fatores responsáveis pelo processo de disseminação do vetor e da expansão da leishmaniose visceral no País (CARRANZA-TAMAYO et al., 2010).

Segundo Scandar et al., (2011) as condições de saneamento e moradia, presença de cães infectados, obras de construção civil e o grande fluxo de pessoas, produtos e serviços por rodovias e ferrovias também têm sido relacionados à expansão e urbanização da leishmaniose visceral no Brasil.

2.1.4 Sinais Clínicos

A doença pode apresentar manifestações clínicas diferentes, de acordo com a espécie de *Leishmania* infectante; a forma cutânea, mucocutânea, cutânea difusa e visceral (FONSECA, 2013). Os sinais clínicos da Leishmaniose visceral (LV) são similares no cão e no homem, podendo ser inespecíficos; os principais achados clínicos são lesões cutâneas, linfadenomegalia local ou generalizada, perda de peso, intolerância ao exercício, diminuição de apetite, letargia, esplenomegalia, poliúria, polidipsia, lesões oculares, epistaxe, onicogrifose, claudicação, vômitos e diarreia (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2015). Também pode apresentar descamação, hiperqueratose nasal, úlceras e hiperpigmentação nasal (KOUTINAS; KOUTINAS, 2014).

Alterações renais também podem ser um sinal da doença no cão, Solano-Gallego et al. (2011) cita as alterações renais como principal causa de óbito em cães com LV.

A Leishmaniose Visceral Canina (LVC) se apresenta sistêmica e crônica, os sinais clínicos variam bastante e dependem, basicamente, da resposta imune do animal infectado, sendo assim, as manifestações clínicas variam de aparente estado sadio a um severo estado terminal (BRASIL, 2016). Como as manifestações clínicas são semelhantes às de outras doenças infectocontagiosas, o diagnóstico deve ser realizado através da associação de dados clínicos, laboratoriais e epidemiológicos (FREITAS, 2011).

2.1.5 Diagnóstico

O diagnóstico da leishmaniose é realizado por uma associação de informações clínicas, epidemiológicas e laboratoriais, Trajano-Silva et al. (2017), relata a falta de uma metodologia laboratorial "padrão-ouro" de diagnóstico em humanos e em animais, o que limita o controle da doença,

pois a obtenção de dados epidemiológicos precisos está associada com a implantação de medidas mais efetivas.

Para melhorar a acurácia no diagnóstico da LVC, o Programa de Controle e Vigilância da Leishmaniose Visceral do Ministério da Saúde (M.S.) recomenda a utilização de um teste rápido imunocromatográfico, compreendendo os antígenos recombinantes rK26 e rK39, o DPP (Dual-Path Plataform; Bio-Manguinhos / Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil), para a triagem de cães infectados (BRASIL, 2014). Os animais são avaliados pelo teste rápido de triagem, de maior sensibilidade, isto é, a reação imunocromatográfica que contém dois antígenos recombinantes – rK39 e rK26 (RIBEIRO et al., 2019).

O teste rápido (DPP) foi incorporado no protocolo atual do Programa de Controle e Vigilância da Leishmaniose Visceral para detecção de LVC, sendo um teste que não requer equipamentos e utiliza uma pequena amostra de sangue (BRASIL, 2006).

Dentre os métodos imunológicos mais utilizados atualmente, destaca-se a RIFI, empregada a partir da década de 1960 (DUXBURY; SADUN, 1964). Para a RIFI utiliza o parasito íntegro como antígeno, sendo bastante útil em estudos epidemiológicos (ALVAR et al., 2012). Entretanto, a execução dessa técnica requer experiência e é muito dispendioso, devido a necessidade de equipamento especializado (GONTIJO; MELO, 2004). No estudo de Lira (2005) o teste mostrou sensibilidade de 68,0% e sua especificidade é de 87,5% para amostras de soro. Todavia, esse método pode apresentar reações cruzadas principalmente com leishmaniose tegumentar americana (LTA) e tripanossomíase americana (BRASIL, 2006).

A partir da década de 80, várias técnicas de biologia molecular foram desenvolvidas para a detecção e identificação precisa dos parasitas do gênero *Leishmania*, sem necessidade de isolamento do parasita em cultura (GONTIJO; MELO, 2004). Essa vertente molecular, conduzida, sobretudo, pela reação em cadeia da polimerase (PCR), baseia-se na amplificação de oligonucleotídeos que formam uma sequência conhecida

do parasito. A de PCR pode ser realizado em diferentes amostras, como sangue, urina, biópsias de pele, aspirados de medula e aspirados de linfonodos, sendo o método menos invasivo. A sensibilidade da PCR é bastante variável de acordo com a amostra utilizada na reação, bem como do iniciador empregado (ALVAR et al., 2004).

O teste de ELISA foi desenvolvido na década de 1970 desde então vem sendo utilizado para a triagem de amostras para o diagnóstico de LVC. Essa técnica, apresenta uma grande vantagem, uma vez que pode ser aplicado para um grande número de amostras em curto espaço de tempo (RIBEIRO et al., 2019).

Atualmente, o exame parasitológico é considerado "padrão-ouro" devido à alta especificidade, pois se trata da visualização das formas amastigotas pelo microscópio óptico. O parasitológico é realizado em amostras de tecidos como o baço, linfonodo e aspirado de medula óssea (BRASIL, 2017). Trata-se de uma metodologia invasiva e há variação da sensibilidade de acordo com o material utilizado: para esfregaço de medula óssea a sensibilidade varia 50% a 83%, linfonodos 30% a 85% e em ambos os tecidos 71% a 91%, relato em cães (LAURENTI, 2009). Os exames sorológicos são baseados na detecção de uma resposta humoral específica, e há vários métodos descritos com sensibilidade e uma especificidade diagnóstica bastante variáveis (SRIVASTAVA et al., 2011).

Portanto, o diagnóstico pode ser realizado através de exames como ELISA e o teste rápido DPP,do PCR e pela observação direta da forma amastigota do protozoário, analisando o material de esfregaço ou impressão em lâminas para a análise microscópica. Este ultimo método apresenta uma especificidade bastante satisfatória, porém está sujeito a erros de leitura e fatores que possam interferir na coleta de um bom material para análise (SILVA, 2018).

2.2 Doença de Chagas

2.2.1 Etiologia

Trypanosoma cruzi é o agente etiológico da tripanossomíase americana ou Doença de Chagas (DC). São protozoários hemoflagelados da classe *Zoomastigophorea* e da família *Trypanosomatidae* (SNOWDEN; KJOS, 2015).

A principal forma de transmissão ocorre a partir do contato da pele lesada e de mucosas com as fezes contaminadas de insetos vetores da subfamília Triatominae (SANGENIS et al., 2016). O vetor é conhecido popularmente como barbeiro e pertence às espécies *Triatoma infestans*, *Rhodnius prolixus* e *Panstrongylus megistus*, dentre mais de 300 espécies que podem transmitir o *Trypanosoma cruzi*) (AGÊNCIA FIOCRUZ, 2013).

Em 2006, o Brasil recebeu da Organização Mundial de Saúde (OMS) certificado de eliminação da transmissão da doença pelo mais relevante vetor domiciliado, o *Triatoma infestans*. Isto, de forma alguma, representa a erradicação da doença – alvo inerentemente inalcançável – a qual continua acontecendo por meio de surtos mediados por outros mecanismos de transmissão como, por exemplo, a via oral. No período de 1975 a 1995, o programa de controle da doença do Cone Sul detectou redução de 89% das transmissões da mesma. As taxas de mortalidade secundárias à DC também já foram reduzidas em 75% desde a década de 1990 (ANDRADE et al., 2011).

A doença é causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi,* caracterizado pela presença de um flagelo e do cinetoplasto. Suas formas evolutivas são amastigota, tripomastigota e epimastigota. Por exemplo, no sangue dos vertebrados, *o T. cruzi* se apresenta-se sob a forma de tripomastigota, que é extremamente móvel, e, nos tecidos se apresenta como amastigotas. No tubo digestivo dos vetores ocorre a transformação do parasito, dando origem às formas infectantes presentes nas fezes do

inseto. A partir disso, é possível entender a transmissão da DC e prevenir a doença (LIMA; TEIXEIRA; LIMA, 2019).

2.2.2 Ciclo evolutivo

O ciclo de vida do *Trypanosoma cruzi* se inicia quando o barbeiro, ao se alimentar do sangue do hospedeiro vertebrado, elimina, em suas fezes e urina, o parasito em sua forma alongada (tripomastigotas metacíclicos). Através de mucosas ou por ferimentos na pele, os parasitos infectam células do hospedeiro, como as do coração. No interior das células, o parasito ganha forma arredondada (amastigotas), multiplicando-se por divisão binária. Quando as células estão repletas de parasitos, eles novamente mudam de forma (tripomastigotas sanguícola), e com a ruptura da célula hospedeira disseminam-se pela corrente sanguínea, sendo capazes de infectar novos tecidos e órgãos. Se o indivíduo ou animal infectado for picado pelo barbeiro, os parasitos em seu sangue podem ser transmitidos ao inseto. No intestino deste, mudam mais uma vez de forma (epimastigotas), multiplicam-se e tornam-se, novamente, formas infectantes, que são eliminadas junto com as fezes e a urina, fechando, assim, o ciclo (BRASIL, 2018).

2.2.3 Epidemiologia

T. cruzi infecta os seres humanos e uma ampla variedade de espécies de mamíferos domésticos e selvagens no hemisfério ocidental. Com uma estimativa de 8 milhões de infecções em seres humanos e 110 milhões de indivíduos com risco, a tripanossomíase é considerada a doença parasitária mais importante das Américas (WHO, 2021)

A doença de Chaga foi inicialmente reconhecida em países da América do Sul, particularmente Argentina, Bolívia, Brasil e Colômbia. A infecção ocorre em seres humanos, bem como em mamíferos domésticos e selvagens (SNOWDEN; KJOS, 2015). Em consequência à estreita relação

do cão com o homem, os caninos são considerados os principais reservatórios domésticos no ciclo peridomiciliar da doença de chagas humana (SOUZA et al., 2008).

No Brasil, já foram documentados dezenas de surtos de Doença de chagas aguda (DCA), entre 1965 e 2013, devido à ingestão de alimentos contaminados, sendo principalmente casos relacionados ao consumo de suco de açaí e de caldo de cana. A transmissão oral é, nos dias de hoje, uma das principais formas de transmissão da doença no Brasil, particularmente na Região Amazônica. O consumo de carne crua ou mal cozida de animais silvestres infectados por *T. cruzi* é mencionado como uma das formas de transmissão, sendo comprovada em estudos experimentais com animais (SANGENIS et al., 2016).

De acordo com o Ministério da Saúde, o estado de São Paulo registrou apenas um caso novo de pessoa com doença de Chagas em 2016 e dois em 2017(FIORAVANTI, 2019).

Dessa forma, investigações acerca de infecções em cães por *T. cruzi* necessitariam ser incluídas na saúde pública, visto ser essa doença comum em áreas rurais, com aumento dos relatos em áreas urbanas e grande variabilidade epidemiológica (BARR et al. 1991, GÜRTLER et al. 2007, ROSYPAL et al. 2007).

2.2.4 Sinais Clínicos

A doença nos caninos é caracterizada por uma cardiomiopatia que se desenvolve em consequência do dano causado pelo parasito às células do miocárdio ou reações imunomediadas (BIGNARDE et al., 2008). A DC é dividida em duas fases: a crônica que é tardia, de evolução lenta e com baixa parasitemia e a aguda que é inicial, de rápida duração, com elevada parasitemia e geralmente autolimitada (LIMA et al., 2019).

Normalmente, a fase aguda é assintomática e inaparente. Quando aparente, o quadro clínico da infecção surge de 5 a 14 dias após a transmissão pelo vetor (AGÊNCIA FIO- CRUZ, 2013). Os sinais clínicos na

fase aguda são caracterizados por miocardite ou encefalite, acometendo principalmente cães jovens entre cinco e seis meses de idade (LAPPIN, 2004; TILLEY; SMITH, 2003). Também é comum a ocorrência de linfadenopatia generalizada, mucosas pálidas, taquicardia, hepatomegalia, esplenomegalia, angústia respiratória, ascite e hipotermia. (NELSON; COUTO, 2006; SNOWDEN; KJOS, 2015).

A fase crônica ocorre depois de 8 a 36 meses da infecção inicial, apresentando dilatação cardíaca, com sinais clínicos atribuídos a insuficiência cardíaca direita e/ou bilateral. São observados ascite, derrame pleural, hepatomegalia e congestão venosa jugular (LAPPIN, 2004; SNOWDEN; KJOS, 2015).

2.2.5 Diagnóstico

O diagnóstico da Doença de Chagas se baseia em um conjunto de dados, ou seja, associação de informações clínicas, epidemiológicas e laboratoriais. O histórico do animal e possível exposição, incluindo a localização geográfica, sinais clínicos, evidencias radiográficas ou ultrassonográficas de cardiomegalia ou evidências no eletrocardiograma (ECG) de anormalidades de condução também sustentam o estabelecimento de diagnóstico da doença de chagas (NELSON; COUTO, 2006; SNOWDEN; KJOS, 2015).

Na análise laboratorial, o diagnóstico da tripanossomíase pode ser feito pela pesquisa do parasito em esfregaço sanguíneo (citológico), pela detecção de anticorpos (RIFI e ELISA), pela detecção do ác. nucleico do parasita (PCR), por inoculação de amostra de sangue em camundongos ou uso de percevejo alimentando-se de hospedeiro com suspeita de infecção para detecção de infecção parasitária (xenodiagnóstico), A cultura in vitro, é uma pratica sensível, mas que leva tempo para isolamento do parasito. Os achados patológicos como lesões macroscópicas (alterações cardíacas, edema pulmonar e

linfadenomegalia) e análise histológica também podem ser utilizados para conclusão do diagnóstico (LUCHEIS et al., 2005; SNOWDEN; KJOS, 2015).

2.3 Reação cruzada

Os testes sorológicos são frequentemente utilizados em inquéritos epidemiológicos e recomendados pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2009). A reação cruzada em testes sorológicos entre *Leishmania spp* e *T. cruzi* ocorre especialmente pela proximidade filogenética entre os parasitos (BRENER; ANDRADE; BARRAL-NETO, 2000; SUNDAR; RAI, 2002).

Em um estudo realizado, na região de Araçatuba, SP, Zanette, (2006) utilizou 50 cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral, verificando que dentre os 50 infectados por *Leishmania spp*, 14 amostras foram reagentes nos testes sorológicos para *T. cruzi*, sendo nove amostras consideradas positivas pela técnica de ELISA e seis pela RIFI.

Alves et al. (2012) avaliaram 117 amostras de soro canino de diferentes regiões brasileiras, utilizando os testes disponibilizados para a rede pública - imunofluorescência indireta, ELISA e DPP e observou que as amostras de cães infectados por *T. caninum* apresentaram sensibilidade de 100% e especificidade de 70.5%, 68% e 97.5% nos testes sorológicos utilizados para diagnóstico de LVC.

Troncarelli et al. (2009) nas regiões de Bauru, SP e Botucatu, SP e Viol et. al., (2011) na região de Araçatuba, SP, observaram que nos testes sorológicos ELISA e RIFI ocorreram reações cruzadas entre os antígenos, para confirmação utilizaram a técnica de Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR).

Zuque (2016) avaliou 683 amostras de soros cães dos municípios da Regional de Saúde de Três Lagoas, que foram submetidos aos testes: DPP, ELISA, RIFI e PCR para pesquisa de Leishmania spp, e observou que dentre as amostras 267 se apresentaram reagentes aos

teste DPP e ELISA, 97 reagentes a RIFI e 17 reagentes ao PCR. As amostras também foram submetidas a pesquisa de *T. cruzi* utilizando a RIFI, sendo 4 (1%) reagentes ao teste, considerando a hipótese de reação cruzada para *Leishmania spp*.

Alves et al. (2012) concluíram que ferramentas sorológicas podem ter um valor limitado para o diagnóstico; Zuque (2016) concluiu que não foram confirmadas a reação cruzada entre a *Leishmania* spp. e *T. cruzi* nas amostras analisadas de sangue de cães com as técninas empregadas, sugerindo que novos estudos devam ser realizados; Troncarelli et al. (2009) ressalta a necessidade de considerar o diagnóstico diferencial com a doença de Chagas e quando ocorrer reação cruzada entre os antígenos deve-se atentar para o quadro clinico do animal, aspectos epidemiológicos e também utilizar outra forma diagnóstica comprovatória.

2.4 Analise estatística

Os dados apresentandos na sorologia assim como os fatores de risco, as correlações, associações e a concordância foram submetidos aos seguintes testes estatísticos:

2.4.1 Modelos de Equações Estruturais (SEM)

Os Modelos de Equações Estruturais (SEM) são um conjunto de técnicas de tratamento de dados que têm recebido grande atenção de pesquisadores (PILATI; LAROS, 2007).

O biólogo Sewell Wright (1918, 1921, 1934, 1960) foi o pioneiro no estudo de modelos que incluem analise de caminhos e mostrou como as correlações entre variáveis constituem os parâmetros do modelo representado pelo diagrama de caminhos (SANCHES, 2005; AMORIM et al.,2012).

Nos Estados Unidos, a técnica se apresenta bastante disseminada, ao contrário do que acontece no Brasil, onde estas equações

passaram a ser usadas recentemente (SANCHES, 2005). Essa modelagem é amplamente utilizada nas Ciências Humanas e Sociais (Neves, 2018).

Em relação ao SEM, a análise fatorial constitui parte de uma metodologia mais ampla. O SEM, em sua forma mais simples, reúne a analise fatorial e a análise de caminhos em um modelo onde estão contidas relações de dependência (AMORIM et al.,2012.

O Modelo estatísticos (SEM), explica as relações entre múltiplas variáveis, que examina a estrutura de inter-relações expressas em uma série de equações (AMORIM et al.,2012). Muitas vezes envolvem relações complexas de vários tipos entre as variáveis, as quais também podem ser de vários tipos. Isso faz com que a visualização e o entendimento de todas relações existentes em um modelo seja bastante difícil de compreender, Assim foi desenvolvido um método gráfico, o diagrama de caminho, que facilita a compreensão das relações entre as variáveis (CAPP; NIENOV, 2020).

2.4.2 Índice Kappa de Cohen

Modelo estatístico proposto por Cohen et al., (1960), sendo mais utilizado quando é necessário classificar dados em categorias nominais (FONSECA et al., 2007). Existem situações em que há a necessidade de avaliarmos a concordância entre duas variáveis, tendo elas sido obtidas por diferentes avaliadores ou avaliadas por meio de dois métodos diferentes (CAPP; NIENOV, 2020).

Considerando o caso de dois avaliadores ou dois métodos laboratoriais, que classificam *n* sujeitos em uma ou em duas categorias nominais, esses avaliadores classificam os sujeitos independentemente (ALEXADRE; COLUCI, 2011).

A concordância que coeficiente *Kappa* é calculado foi baseada na fórmula de 1960:

$$kappa(\kappa) = \frac{P_o - P_e}{1 - P_e}$$

Para interpretar o valor de *Kappa*, são utilizados os parâmetros sugeridos por Landis e Koch (1977) e apresentados por Capp e Nienov (2020):

VALOR DO COEFICIENTE	NÍVEL DE CONCORDÂNCIA
0,00	Sem concordância
0,00-0,19	Discreta
0,20-0,39	Regular
0,40-0,59	Moderada
0,60-0,79	Substancial
0,80-1,00	Quase perfeita

2.4.3 Distribuição Qui-quadrado (X^2)

Teste estatístico não paramétrico Qui-quadrado, é utilizado para avaliar a diferença de dois dados categóricos entre si (PIRES et al., 2018).

O teste se destina a encontrar um valor da dispersão de duas variáveis categóricas nominais e avaliar a associação existente entre variáveis qualitativas, sendo utilizado para verificar se a frequência com que um determinado acontecimento observado em uma amostra se desvia significativamente e comparar a distribuição de diversos acontecimentos em diferentes amostras (BEIGUELMAN, 1996). O teste do Qui-quadrado de Pearson tende a produzir valores significativos que são muito pequenos e podem levar ao erro. Portanto, existe uma correção de teste, a correção de continuidade de Yates, recomendado a fim de evitar eventuais conclusões erradas. (CAPP; NIENOV, 2020).

2.4.4 Coeficiente de correlação de *Spearman*

O coeficiente de correlação de *Spearman (ρ),* descrito em 1904 por Charles Spearman, é uma técnica estatística não-paramétrica, mais conhecidas e utilizadas na prática, sendo em casos em que a binormalidade dos dados. A vantagem de Spearman é que este não é afetado pelos valores atípicos ou extremos (CAPP; NIENOV, 2020).

2.4.5 U de Mann-Whitney

O teste U de Mann-Whitney é um teste não paramétrico para a comparação de dois grupos independentes (CAPP; NIENOV, 2020). O U de Mann-Whitney se assemelha ao teste de Wilcoxon, pois ambos envolvem classificação de valores. No entanto, o U de Mann-Whitney faz o agrupamento de dados e os classifica, sendo o teste estatístico recomendado para dados não pareados. A única exigência do teste de Mann-Whitney é a de que as observações sejam medidas em escala ordinal ou numérica (KING; ECKERSLEY, 2019).

2.5 Proposição

A modelagem matemática vem sendo utilizada como uma ferramenta importante no processamento de dados científicos, uma vez que nos permite analisar os fatores de impacto frente as ocorrências, suas possíveis associações, correlações e concordâncias entre as múltiplas variáveis. Pelo exposto, nosso estudo recorreu a tal ferramenta afim de elucidar propostas de problemas e desafios.

2.6 Objetivos

2.6.1 Objetivo geral

O presente trabalho teve por objetivo geral utilizar a modelagem matemática afim de correlacionar e associar os resultados das reações cruzadas frente aos fatores de risco de animais sororreativos a *Leishmania spp* e a *Trypanosoma cruzi.*

2.6.2 Objetivos específicos

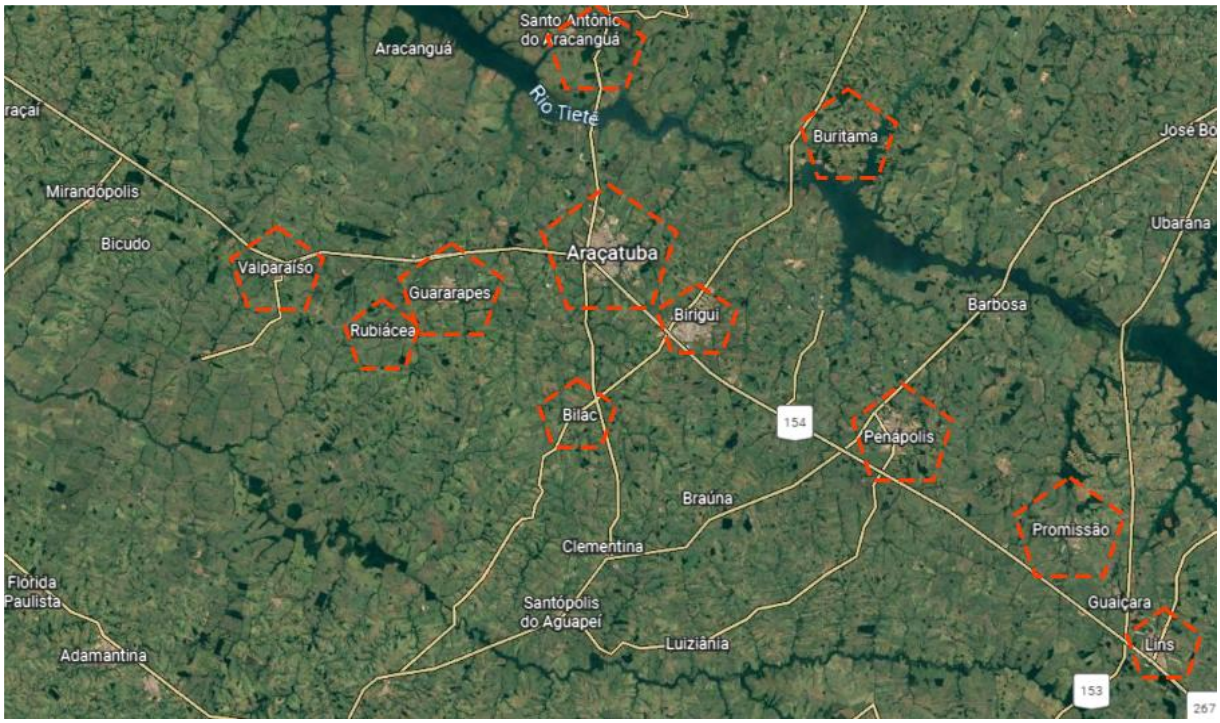
- Determinar a correlação entre às múltiplas variáveis observáveis sobre a sororreatividade, frente os resultados sorológicos à Reação de Imunofluorescência Indireta;
- Determinar fatores de risco ambientais sobre a sororreatividade frente *Leishmania spp e*; *Trypanosoma cruzi;*
- Determinar a concordancia entre os testes sorológicos utilizados no diagnóstico da Doença de chaga e Leishmaniose canina e avaliar a associação de fatores intrinsecos com a sororreatividade.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Amostras

Foram utilizadas 266 amostras de soro. As amostras foram testadas para *Leishmania spp.* e estavam armazenadas no laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba/SP FMVA-Unesp de cães oriundos do atendimento do Hospital Veterinário da FMVA, durante o período de 2017 a início de 2020.

Figura 1 – Apresentação da distribuição espacial da área em função da sorreatividade dos cães frente aos protozoários da Região noroeste do estado de São Paulo, período 2017 a 2020



Fonte: Elaborada pelo autor

3.2 Provas sorológicas

3.2.1 Para *Leishmaniose Visceral Canina*

A pesquisa de anticorpos *anti- Leishmania* ssp foi realizada inicialmente pela técnica qualitativa rápida, utilizando-se o teste rápido de triagem – "kit TR DPP® (Teste Rápido Dual Path Platform, Bio-Manguinhos) e posteriormente, foram submetidas ao teste quantitativo do

Ensaio Imunoenzimático (ELISA), para confirmação dos resultados. O ELISA foi realizado no Instituto Adolfo Lutz - Araçatuba-SP, conforme protocolo próprio.

3.2.2 Para Doença de Chagas

As amostras foram testadas pela Reação de imunofluorescência indireta (RIFI) de acordo com o método de Camargo (1966), A RIFI foi realizado em parceria com o laboratório de Zoonoses da FMVZ / Botucatu –SP, utilizando-se lâminas para imunofluorescência compostas de duas fileiras de seis orifícios, contendo antígenos fixados de *Leishmania major* e *Trypanosoma cruzi,* com o *cut-off* de 1:40 e 1:20.

3.3 Análise Estatística

Os dados coletados foram armazenados em Excel (© Microsoft), e consolidados em planilhas, tabelas, gráficos para análise. Foi realizada análise descritiva dos dados e dos resultados dos testes sorológicos para Leishmaniose Visceral Canina (LVC).

Para a análise dos resultados obtidos nos testes ELISA e RIFI, foi empregado o índice *Kappa de Cohen*, utilizado para avaliar a concordância entre duas variáveis, sendo elas obtidas por diferentes avaliadores ou avaliadas por meio de dois métodos diferentes

No estudo, a concordância nos diagnósticos sorológicos foi calculada usando-se o índice *Kappa de Cohen*, a partir da tabela de contingência, e a interpretação dos resultados conforme classificação de Landis & Koch (1977): k > 0,80-1,00 concordância quase perfeita; 0,60-0,79 substancial; 0,40-0,59 moderada; 0,20-0,39 regular; 0,00-0,19 discreta e 0,00 sem concordância.

A análise de correlação entre a RIFI para *Leishmania* spp e *T. cruzi,* foram avaliadas pelo teste estatístico de correlação de *Spearman* (ρ). Para verificar a ocorrência de associação entre as variáveis: sexo,

raça e sinais clínicos, frente aos testes sorológico (RIFI – *Leishmania spp. e* RIFI – *T. cruzi)* foram aplicados os testes qui-quadrado e correção de continuidade. Também foram utilizado os testes de corração de continuidade e U de Mann-Whitney, para conferir o tamanho do efeito que a faixa etária poderia ter em relação a presença de anticorpos anti-*Leishmania* spp e anti-*T.cruzi*, cuja interpretação seria: tamanho de efeito grande (valores superiores ou iguais a 0,8), tamanho de efeito médio (entre 0,8 a 0,2) e tamanho de efeito pequeno (inferiores a 0,2) (CAPP; NIENOV, 2020).

Também foram consideradas as múltiplas variáveis observáveis de influência sobre o potencial de erro como: sexo, idade, pelagem, porte, características do piso (terra e cimento), acesso à rua, localização da residência (área verde, bairro de periferia e ou área central) como os possíveis fatores de risco analisadas pelo Modelo de Equação Estrutural (SEM), e o método estimação: WLSMV (*Robust Weighted Least Squares)*.

Os modelos de ajustes foram: CFI (índice de ajuste comparativo) e TLI (índice de *Tucker Lewis*) calculam o ajuste do modelo observado, apresentando os valores: acima de 0,95 indicam ótimo ajuste e os superiores a 0,90 indicam ajuste adequado (Bentler, 1990; Hu & Bentler, 1999). O RMSEA (raiz do erro médio quadrático de aproximação), avalia se o modelo se ajusta a população, valores menores que 0,05, mas aceitáveis até 0,08 (AMORIM et al.,2012)

O programa estatístico utilizado foi o *Software Version 2.3 jamovi project* (2022) (EPSKAMP et al., 2019; GALLUCCI; JENTSCHKE, 2021; JORGENSEN et al., 2019; ROSSEEL, 2019).

Em anexo é possível visualizar a montagem de toda a estatística no programa computacional Jamovi.

4 RESULTADOS

4.1 Pesquisa de anticorpos

Foram analisadas 266 amostras de soros de cães provenientes de 11 municípios da região noroeste de São Paulo, (Figura 1). Dentre o total de amostras analisadas (266), 226 (85%) foram reagentes e 40 (15%) não reagentes frente aos testes DPP e teste qualitativo ELISA, para *Leishmania spp*. (Tabela 1).

Na Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) para *T. cruzi*, 156(59%) amostras reagentes e 110(41%) não reagentes; 141(53%) amostras apresentaram simultaneamente anticorpos anti- *Leishmania spp e anti- T.cruzi*, com reatividade cruzada, em ambos os testes sorológicos.

TABELA 1 – Resultados do diagnóstico para LVC e doença de Chagas segundo as técnicas sorológicas e os municípios da região noroeste de São Paulo, 2017-2020.

Amostras / **Municípios**		**Testes sorológicos**							
		DPP®		**ELISA**		**RIFI - L**		**RIFI - T**	
		R	NR	R	NR	R	NR	R	NR
Araçatuba	211	179	32	179	32	125	86	126	85
Bilac	1	0	1	0	1	1	0	0	1
Birigui	21	17	4	17	4	10	11	10	11
Buritama	2	2	0	2	0	2	0	1	1
Guararapes	3	3	0	3	0	1	2	1	2
Lins	3	3	0	3	0	1	2	2	1
Penápolis	15	13	2	13	2	9	6	9	6
Promissão	5	5	0	5	0	4	1	4	1
Rubiacea	1	1	0	1	0	1	0	1	0
Santo Antônio do Aracangua	3	2	1	2	1	2	1	2	1
Valparaiso	1	1	0	1	0	0	1	0	1
TOTAL	266	226	40	226	40	156	110	156	110

R: reagente; NR: não reagente. DPP®: Dual Path Platform. ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay. RIFI: Reação de Imunofluorescência Indireta. RIFI – L para LVC. RIFI – T para DC.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Considerando o teste ELISA, que Ministério da Saúde indica para definir diagnóstico sorológico positivo para LVC, do total das 266 amostras testadas, 226 (85%) testaram reagentes ao teste.

Os testes sorológicos para LVC - ELISA e RIFI revelaram concordância de 71% com confiabilidade moderada k = 0.350, apresentando valor – p <0.001, considerado valor significativo (tab. 2)

TABELA 2 – Concordância dos resultados expressos e comparados entre ELISA e RIFI para *Leishmania spp., sendo o* total 1 e 2 referentes aos resultados obtidos no teste ELISA e RIFI, respectivamente.

		RIFI – LEISH	
ELISA - LEISH	REAGENTE	NÃO REAGENTE	**TOTAL1**
REAGENTE	153(57,5)	73 (27,4)	110
NÃO REAGENTE	3(1,1)	37(13,9)	156
TOTAL2	40	226	266

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.2 Reações cruzadas para anticorpo anti-*Leishmania spp.* e anti-*Trypanosoma cruzi* pela de Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)

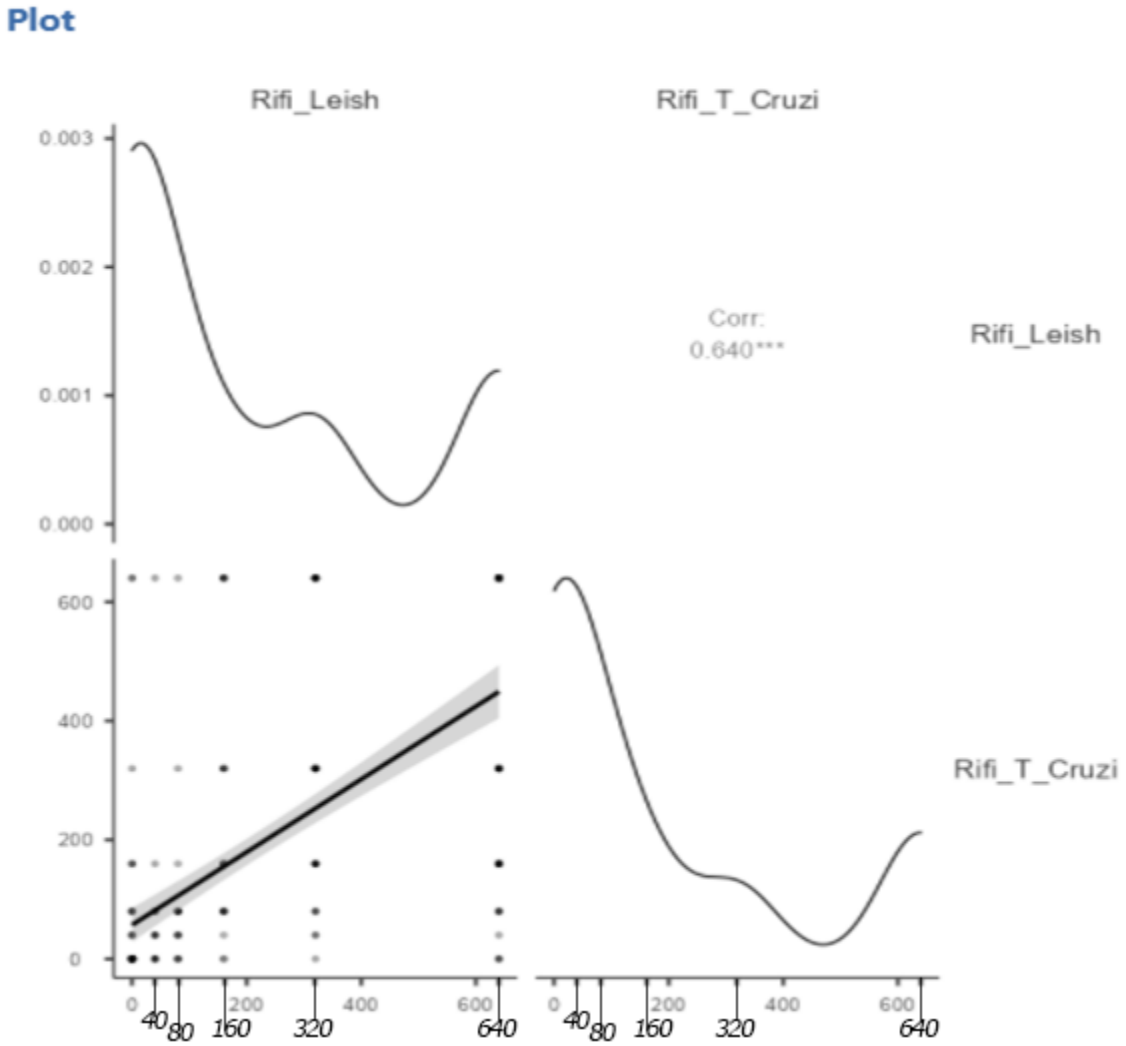
Por meio da RIFI, de 141 (89%) amostras apresentaram sororreatividade a ambos os protozoários; sendo que 59 amostras apresentaram anticorpos *anti-Leishmania* e anti-*T. cruzi*, com títulos semelhantes: sendo 4 amostras (1,5%) expressando título de 40, oito (3 %) 80, oito (3 %) 160, 12 (4.5 %) 320 e 27 (10.2 %) 640. Enquanto que 33 amostras apresentaram títulos maiores para *T. cruzi*, outras 30 amostras apresentaram títulos de anticorpos apenas para um dos parasitos, sendo 15 com títulos expressos para *Leishmania spp*. e outras 15 para *T. cruzi*, conforme encontra-se apresentado no figura 2.

Não foram observados anticorpos anti-*Leishmania spp*. e anti-*T.cruzi* em 95 amostras, sendo que 49 dessas amostras apresentaram títulos maiores para *Leishmania spp.* do que para *T. cruzi*.

O teste Kappa de Cohen revelou uma concordância de 89% e uma confiabilidade de 0.7675, considerado substancial, entre a RIFI para *Leishmania spp* e RIFI para *T. cruzi*.

Para a análise de matriz de correlação, foi aplicado o coeficiente de correlação de *Spearman* (ρ), apresentando uma correlação forte, com coeficiente de ρ = 0,784 e p – valor = < 0,001. O p-valor significativo expresso pela correlação de *Spearman,* evidenciando-se uma relação significativa entre as variáveis testadas.

Figura 2 – Resultados das amostras de soro de cães provenientes da região noroeste do estado de SP no período de 2017 a 2020 frente a matriz de correlação que expressaram anticorpos anti-*Leishmania spp*. e anti-*Trypanosoma*



Fonte: Elaborado pelo autor.

Das 156 amostras reagentes a RIFI, 76 foram provenientes de cães machos e 80 de fêmeas. Já para *T. cruzi,* do total de 156 amostras, reagente 79 foram provenientes de fêmeas e 77 de machos.

As Tabelas de contingências 3 e 4 expressam os resultados analisados pelo teste de X² correção de continuidade frente as variáveis analisadas, sexo do animal X teste sorológico (RIFI – *Leishmania spp. e* RIFI – *T. cruzi) com* os valores de p= 0,585 e 0,425, respectivamente. Para ambas as variáveis o valor de p foi >0,05, não ocorrendo associação entre a variável sexo e a presença de anticorpos *anti- Leishmania* spp e anti- *T. cruzi.*

TABELA 3 – Resultado da associação a variável sexo e a presença de anticorpos *anti-Leishmania spp* e *anti-T. cruzi.*

	RIFI – Leishmania spp		**RIFI – Trypanosoma cruzi**	
SEXO	**Reagente**	**Não Reagente**	**Reagente**	**Não Reagente**
FÊMEA	80(51.3)	61(55.5)	79(50.6)	62(56.4)
MACHO	76(48.7)	49(44.5 %)	77(49.4)	48(43.6)
TOTAL	156(100.0)	110(100.0)	156(100.0)	110(100.0)

*Resultados expressos em porcentagem (%)
Fonte: Elaborada pelo autor.

No total de 32 raças de procedência das amostras dos cães utilizados no estudo, sendo que a maior predominância apresentou 144 (54,1%) amostras provenientes de cães sem raça definida (SRD), seguida por 19 (7,1%), de *Pitbull,* 12 (4,5%) de *Poodle*, nove (3,4%) de Labrador e de *Pinscher*, oito (3%) de Pastor Alemão, seis (2,3%) de *Chow-Chow*, outras 25 raças estão representadas com números de um a cinco animais cada, totalizando 59 cães (22,27%).

A Tabela 4 de Contingencia apresenta os resultados entre a associação das variáveis: raça, RIFI – *Leishmania spp*. e RIFI – *Trypanosoma cruzi*, frente ao testes Qui- quadrado (X²) e X² correção de continuidade, apresentando o intervalo de confiança (IC) de 95%. Sendo obtido o valor de p >0,05, não sendo observado a associação entre a

variável raça com a presença de anticorpos *anti-Leishmania spp.* e *anti-T. cruzi*.

TABELA 4 – Resultados da associação entre a variável raça e a presença de anticorpos anti- *Leishmania spp* e anti-*T. cruzi* em amostras de cães da região noroeste do estado de São Paulo, período de 2017-2020.

(Continua)

	RIFI – *Leishmania spp.*		RIFI – *Trypanosoma cruzi*		
Raças	**Reagente**	**Não Reagente**	**Reagente**	**Não Reagente**	**Total**
SRD	88	56	90	54	144
Pitbull	14	5	14	5	19
Poodle	7	5	7	5	12
Labrador	3	6	2	7	9
Pinscher	7	2	5	4	9
Pastor alemão	5	3	4	4	8
Chow-chow	2	4	2	4	6
Blue heeler	4	1	3	2	5
Boxer	4	1	4	1	5
Shih tzu	0	5	1	4	5
Basset hound	2	2	3	1	4
Beagle	3	1	3	1	4
Bulldog inglês	2	2	2	2	4
Dachshund	1	3	1	3	4
Cocker spanish	2	1	2	1	3
Lhasa apso	0	3	0	3	3
Border colie	2	0	2	0	2
Bulldog frances	2	0	2	0	2
Fila	0	2	1	1	2
Fox paulistinha	2	0	2	0	2
Rottweiler	1	1	1	1	2
Schnauzer	1	1	1	1	2
Akita	0	1	0	1	1
Dalmata	1	0	1	0	1
Golden retriever	0	1	0	1	1
Dalmata	1	0	1	0	1
Husky siberiano	1	0	1	0	1
Pastor belga	1	0	1	0	1

TABELA 4 – Resultados da associação entre a variável raça e a presença de anticorpos anti- *Leishmania spp* e anti-*T. cruzi* em amostras de cães da região noroeste do estado de São Paulo, período de 2017-2020.

(Conclusão)

	RIFI – *Leishmania spp.*		RIFI – *Trypanosoma cruzi*		
Raças	**Reagente**	**Não Reagente**	**Reagente**	**Não Reagente**	**Total**
Pastor maremano	0	1	0	1	1
Pug	0	1	0	1	1
Red heeler	1	0	1	0	1
West h terrier	0	1	0	1	1
Whippet	0	1	0	1	1
Total	156	110	156	110	266

Fonte: Elaborada pelo autor.

4.2.1 Associação entre a presença de sinais clínicos e a presença de anticorpos *anti – Leishmania spp* pelos testes de ELISA e DPP

Das 226 amostras de soro de sangue provenientes de cães reagentes sorologicamente para *Leishmania spp.* aos testes de ELISA e ao DPP, 83(31,2%) das amostras eram provenientes de animais assintomáticos e 143(53,8%) sintomáticos (tabelo 5). O teste de correção de continuidade indicou associação significativa entre os testes de DPP e ELISA com os sinais clínicos apresentando o valor de $p < 0,001$, com Intervalo de confiança de 95%. O sinal clínico mais frequente foi a linfoadenopatia, em 88 animais (33,1%), seguido por emagrecimento em 67(25,2%), onicogrifose em 41(15,4%) (tabela 8).

TABELA 5 – Associação entre as variáveis sinais clínicos e presença de anticorpos anti–*Leishmania* spp pela técnica de DPP+ELISA

	DPP+ELISA		
SINAIS CLÍNICOS	**Reagente**	**Não Reagente**	**Total**
Assintomático	83	28	111
Sintomático	143	12	155
Total	226	40	266

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.2.2 Associação entre a presença de sinais clínicos e a presença de anticorpos anti – *Leishmania spp* pela RIFI

Os resultados da RIFI para leishmaniose demonstraram que 44 das amostras reagentes foram provenientes de animais assintomáticos e 112 de sintomáticos. O teste de correção de continuidade indica associação significativa entre RIFI – *Leishmania* spp. com os sinais clínicos ($p < 0,001$) com Intervalo de confiança de 95% (tabela 6).

Dentre os sinais clínicos mais ocorrentes: 65 (24,4%) foi a *linfoadenopatia, seguida de emagrecimento* 51(19,2%)*, onicogrifose* 34(12,8%)*, lesão orelha* 22(8,3%)*, focinho* 17(6,4%), Hepatoesplenomegalia 15(5,6%)*, pata* 13(4,9%)*, outros* 3 (1,1%), conforme ilustrado na (tabela 8).

TABELA 6 – Associação entre as variáveis sinais clínicos e RIFI – *Leishmania* spp.

	RIFI – *Leishmania Spp*.		
SINAIS CLÍNICOS	**Reagente**	**Não Reagente**	**Total**
Assintomático	44	67	111
Sintomático	112	43	155
Total	156	110	266

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.2.3 Associação entre a presença de sinais clínicos e a presença de anticorpos *anti –T. cruzi* a RIFI

Das 156 amostras que apresentaram anticorpos *anti- T.cruzi*, 44 eram procedentes de animais assintomáticos e 112 de sintomáticos. O teste de correção de continuidade indica associação significativa entre RIFI – *Trypanosoma cruzi* com os sinais clínicos ($p < 0,001$) com Intervalo de confiança de 95% (tabela 7), sendo que 68 (25,6%) amostras eram provenientes de animais que apresentaram linfoadenopatia, seguido de emagrecimento em 51 (19,2%), onicogrifose em 37 (13,9%) e demais sinais clínicos, que totalizam 41,1% da frequência (tabela 8).

TABELA 7 – Associação entre as variáveis sinais clínicos e presença de anticorpos anti–*Trypanosoma cruzi* pela RIFI

	RIFI – *Trypanosoma Cruzi*		
SINAIS CLÍNICOS	**Reagente**	**Não Reagente**	**Total**
Assintomático	44	67	111
Sintomático	112	43	155
Total	156	110	266

Fonte: Elaborado pelo autor.

TABELA 8 – Distribuição dos sinais clínicos em cães reagentes aos testes no período de 2017-2020.

Sintomáticos	DPP	Elisa	RIFI - *Leishmania spp*.	RIFI - T. cruzi
Linfoadenopatia	88(33,1)	88(33,1)	65(24,4)	68(25,6)
Emagrecimento	67(25,2)	67(25,2)	51(19,2)	51(19,2)
Onicogrifose	41(15,4)	41(15,4)	34(12,8)	37(13,9)
Lesão – Orelhas	28(10,5)	28(10,5)	22(8,3)	24(9,0)
Lesão – Focinho	20(7,5)	20(7,5)	17(6,4)	18(6,8)
Hepatoesplenomegalia	19(7,1)	19(7,1)	15(5,6)	17(6,4)
Lesão – Patas	17(6,4)	17(6,4)	13(4,9)	15(5,6)
Outros	3(1,1)	3(1,1)	3(1,1)	3(1,1)
Pneumonia	1(0,4)	1(0,4)	0(0,0)	1(0,4)

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.2.4 Associação entre a faixa etária e a presença de anticorpos anti-*Leishmania spp* e anti-*Tryanosoma cruzi*

O teste qui-quadrado X^2, aplicado para verificar associação entre as variáveis apresentam os resultados:

Para RIFI – *Leishmania spp*, o X^2 foi de 4.50, GL=2 e valor de p = 0.106.

Para RIFI – *T. cruzi*, o X^2 foi de 4.11, GL=2 e valor de p = 0.128.

Para ambos testes o valor de p não se apresentou significativo.

Também foi realizado o teste de Mann-Whitney para verificar o efeito entre a faixa etária em relação à presença de anticorpos anti-

Leishmania spp. e anti-*T.cruzi* e o valor de p se mostrou >0.05 ou seja, o resultado foi não significativo, O tamanho do efeito da faixa etária para a presença de anticorpos anti-*Leishmania spp* foi 0.0995 e para anti-*T.cruzi* foi 0.0244 e ambas foram consideradas pequenas.

Quanto a variável faixa etária em relação à presença de anticorpos pela RIFI para Leishmania spp e RIFI para T. cruzi, os resultados foram semelhantes com predominância de reagentes entre a faixa etária de 2 a 8 anos, seguida de animais com mais de 9 anos (tabela 9).

TABELA 9 – Distribuição e efeito o entre a faixa etária e a presença de anticorpos *anti- Leishmania* spp e *T. cruzi* em amostras de cães da região noroeste do estado de São Paulo, período de 2017-2020).

	RIFI			
	Leishmania spp		*T. cruzi*	
Faixa Etária	**Reagente**	**Não Reagente**	**Reagente**	**Não Reagente**
≤1 ano	8	5	11	2
2 - 8 anos	104	86	107	83
≥9 anos	44	19	38	25
TOTAL	156	110	156	110

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.3 Análise da Reação Cruzada

As amostras foram avaliadas durante o período de 2018 a 2020, utilizando-se o modelo de equação estrutural (SEM). O método de estimação aplicado foi *Robust Weighted Least Squares* (WLSMV), promovendo qualidade de ajustes e o valor de p para o modelo de uso foi de 0.990, o RMSEA 0.000, o CFI 1.000 e o TLI 1.115, sendo considerados valores satisfatórios.

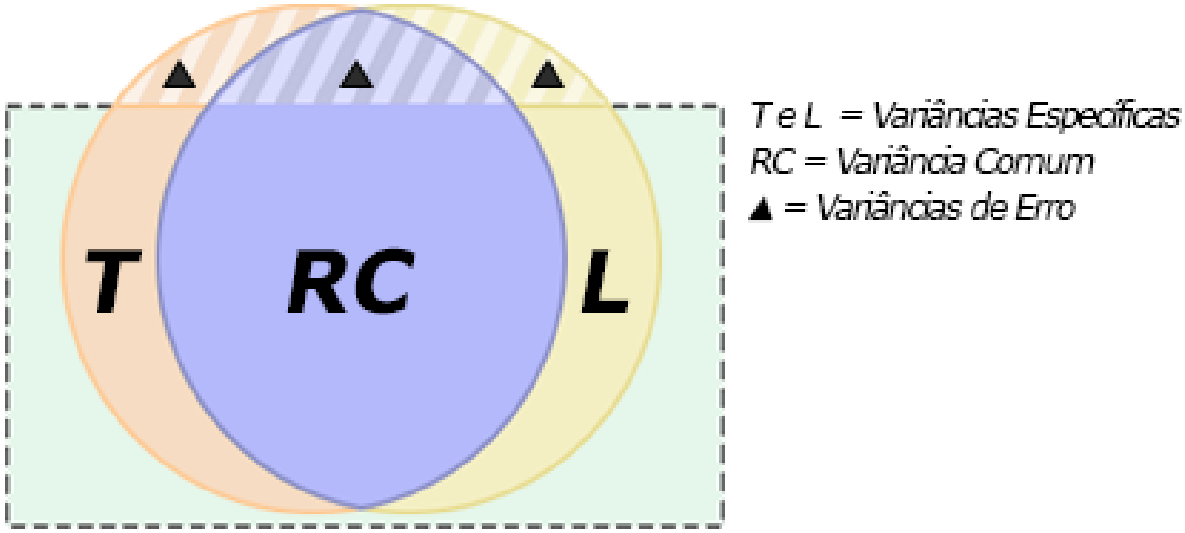
O Diagrama de Venn (fig. 3) ilustra a reação cruzada (RC) destacando-se como a variância comum, ou seja, o que os antígenos *Leishmania spp*. e *Trypanosoma cruzi* compartilham entre eles.

No diagrama de *caminho* (fig. 4), entre as doze variáveis observáveis analisadas, considerando-se como as preditoras da reação cruzada (variável latente), as variáveis: local do bairro, o teste de Elisa e os sinais clínicos apresentaram influencia significativas p menor que 0,05, enquanto as demais variáveis obtiveram o valor de p acima de 0,05, não apresentando resultados significativos. A variável bairro influenciou negativamente (-0.1693 / -16%) o potencial de erro sendo que o valor de p apresentou-se significativo (p=0.034).

O teste Elisa influenciou (0.25743 / 25%) a reação cruzada e o valor de p foi significativo (p<0.00), assim como os sinais clínicos que apresentou para a reação cruzada (0.32359 / 32%), sendo valor de (p<0.01). Em relação as variáveis observáveis de mensuração a variável latente apresentaram influência maior para RIFI *T. cruzi* 0.81/ 81% (p<0.01) do que para RIFI *Leishmania* 0,77/ 77% (p<001). As variáveis pelagem, porte, bairro e local de moradia, presença de piso, não apresentaram resultados estatisticamente significativos quando correlacionados a presença de anticorpos *anti-Leishmania* spp e anti-*T.cruzi.*(fig. 4)

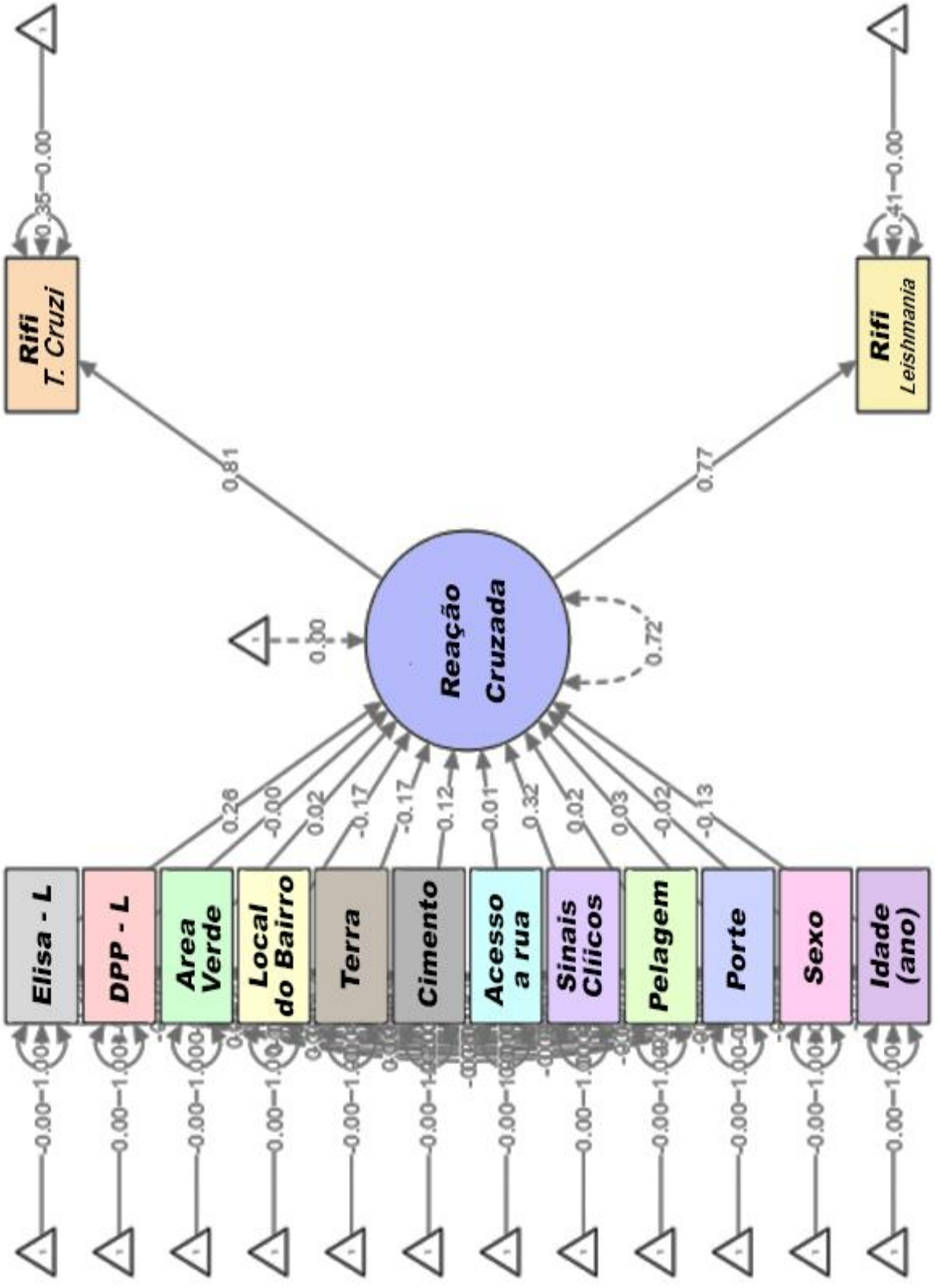
Em anexo é possível visualizar o modelo de equação estrutural (f. 95)

Figura 3 - O diagrama de *Venn:* ilustração das variâncias: *T. cruzi* (T) e *Leishmania spp.* (L) e suas relações com um fator latente (Reação cruzada (RC)).



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 4 - Diagrama da técnica de Modelagem em Equações Estruturais (SEM) demonstrando a influência das variáveis sobre a ocorrência reatividade para *Leishmania spp e T. cruz* período de 2018 – 2020.



Fonte: Elaborado pelo autor.

5 DISCUSSÃO

O estudo demonstrou a alta prevalência de anticorpos anti-*Leishmania spp. e* anti-*T.cruzi* em amostras de cães oriundos da região noroeste do estado de São Paulo, revelando a franca circulação destes protozoários entre a população canina. A alta ocorrência de reatividade cruzada fundamenta-se na proximidade filogenética entre *Leishmania spp. e T. cruzi*, acarretando resultados falso-positivos à sorologia; dependendo do(s) antígeno(s) utilizado(s), RIFI pode ter menor reatividade cruzada em comparação com ELISA (TROCARELLI, et al., 2008).

A reatividade cruzada prejudica a capacidade de identificar se um cão está experimentando ativamente uma co-infecção de *Leishmania com T. cruzi* se teve exposição prévia a qualquer dos patógenos ou reatividade cruzada em um teste de diagnóstico (BEASLEY et al., 2021) ou até mesmo como resultado de co-infecções em cães por múltiplos tripanossomatídeos (PORFIRIO et al., 2018), bactérias como *Ehrlichia spp, Anaplasma spp, Borrelia spp* e parasitas como *Babesia* spp, *Neospora* spp e *Toxoplama gondii* (ZANNETE, 2006) entre outras, inclusive *Dirofilaria immitis*, *Paracoccidioides braziliensis* (BEASLEY et al., 2021), como vem sendo descrita na literatura compulsada em diversas regiões do Brasil.

Os efeitos dessas co-infecções sobre a epidemiologia, as respostas imunológicas, a apresentação clínica e o manejo da Leishmaniose Canina (LC) são importantes para o entendimento clínico e molecular e as consequências epidemiológicas, clínicas e imunológicas das co-infecções, durante a leishmaniose canina com outras doenças transmitidas por vetores pode acelerar a progressão da LC (BEASLEY et al., 2021).

As co-infecção caracterizam pela presença de anticorpos anti – tripanossomatídeos, mas sem manifestação clinica constitui-se em um grande desafio para o estabelecimento de diagnóstico. A presença de reatividade sorológica para ambos os tripanossomatídeos indica a necessidade da associação de mais de um teste sorológico para a

confirmação especifica e real do diagnóstico. Assim, outros métodos diagnósticos devem ser associados, como o de reação em cadeia da polimerase (PCR) e/ou exame parasitológico simultâneos para estabelecer o diagnóstico de leishmaniose canina (LC) como afirma Trocarelli et al. (2009) em semelhante estudo realizado na cidade de Bauru.

No entanto, se a carga parasitária de qualquer organismo for baixa em uma amostra de diagnóstico relevante, como sangue total, a PCR pode não ser sensível o suficiente para detecção, dependendo da sequência alvo usada (GALLUZZI et al., 2018; ORDÓÑEZET et al., 2020). Desta forma, a associação entre testes de diagnóstico, quantitativos e qualitativos devem ser empregadas a fim de se estabelecer o diagnostico especifico para a enfermidade.

A análise dos resultados referentes a concordância entre o teste Elisa e a RIFI para a detecção de anticorpos anti-*Leshmania* foi 71% e confiabilidade (moderada) (*Kappa* = 0,350), os quais de acordo com Pereira (2001) apresentaram uma boa concordância, assim como os resultados encontrados por Zanette (2006), que encontrou valor de *Kappa* = 0,788, sendo considerado substancial e Viol et al. (2012) que obteve uma concordância considerada boa.

Foi verificado a soropositividade simultânea para *Leishmania spp*. e para *T.cruzi*, nas amostras de soros de 141 dos 266 cães avaliados no presente estudo e estes resultados corroboram aos verificados por (TRONCARELLI et al., 2008). Observou-se ainda que a reatividade cruzada foi maior em soros que apresentaram altas titulações frente a ambos protozoários, com um *Kappa de Cohen* mostrando concordância de 89% e confiabilidade substancial. Já o coeficiente de correlação de *Spearman* (ρ), apresentou uma correlação forte, *Spearman* = 0,784 e p – valor = < 0,001, diferentemente de *Mackinnon* (2000), que não observou correlação significativa *Spearman* em 0,170 com valor de p=0,344.

Os resultados ainda revelam uma maior ocorrência de anticorpos *anti-Leishmania* ssp., quando comparados aos anticorpos *anti-T.cruzi* expressos nos testes, podendo estar associados à característica endêmica

da região para Leishmaniose da região. Outro aspecto relevante que poderia explicar a baixa sensibilidade nos testes imunológicos de *Trypanosoma* seria em função do nível de parasitemia que é variável de acordo com o estágio da infecção, sendo maior na fase aguda do que na infecção crônica (ARAÚJO et al., 2002; PINEDA; LUQUETTI; CASTRO, 1998).

Assim, os resultados obtidos no estudo fornecem evidências de infecções cruzadas por ambos os protozoários nos animais analisados. Na pesquisa de variáveis com possível associação a presença de anticorpos anti - *Leishmania spp.* e anti - *T. cruzi na RIFI*, foi avaliado a variável sexo, raça e sinais clínicos. Sobre a variável sexo, não houve associação e não foi observado valor de p significativo. Viol (2011), observou maior ocorrência de infecção por *Leishmania* spp., tanto pelo ELISA, como pela PCR ($p<0,05$) em cães machos e Almeida et al. (2009) e Dantas-Torres et al. (2010) pela técnica de RIFI, não observaram diferença significativa entre as variáveis estudadas em relação à ocorrência de anticorpos contra este protozoário. O que contradiz os achados de Zaffaroni et al. (1999) e Dantas-Torres; Brito; Brandão-Neto (2006), que também notaram maior proporção de machos adultos infectados. De acordo com Anuradha; Pal; Katiyar (1990), o nível de testosterona influencia na susceptibilidade ao parasita.

Na variável raça, não foi observado a associação entre a variável com a presença de anticorpos *anti-Leishmania spp.* e *anti-T. cruzi pela RIFI*, diferentemente de Martins (2018) que observou associação de raça, com os testes sorológicos DPP+ELISA, o valor de p apresentou-se não significativo.

Nossos resultados demonstraram associação entre os variáveis sinais clínicos com os testes sorológicos DPP+ELISA e a RIFI para detecção de anticorpo anti-*Leishmania spp*. e anticorpo anti-*T.cruzi*, assemelhando-se ao resultado obtido por Martins (2018), que também observou associação dos sinais clínicos com a presença de anticorpo anti-*Leishmania* spp. aos testes DPP+ELISA.

No presente estudo observamos maior frequência linfoadenopatia, emagrecimento, onicogrifose e lesões de mucosa, assim como Martins (2018), observou dermatopatia, onicogrifose, emagrecimento e linfoadenopatia.

A associação da variável faixa etária com a presença de anticorpo anti- *Leishmania spp*. e anti-*T. cruzi* foi avaliada por x^2 que apresentou valor de p não significativo, não observando associação. Para verificar o tamanho de efeito utilizou-se o U de Mann-Whitne, que apresentou os valores do tamanho do efeito para *Leishmania spp* = 0.0995 e para *T.cruzi* = 0.0244 e sendo assim ambos considerados com tamanho de efeito pequeno e o valor de p maior que 0,05 não sendo significativo. No estudo de Viol (2011), cães adultos e idosos apresentaram soropositividade para LVC e *T. cruzi* frente as provas sorológicas DPP, ELISA e RIFI. Martins (2018) obsersou maior percentual de cães adultos reagentes ao DPP e ELISA.

De fato os cães são importantes reservatórios domésticos para *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania* spp., constituindo um problema de saúde pública mundial (GÜRTLER et al., 1993; GÜRTLER; CARDINAL, 2015; MAIA-ELKHOURY et al., 2008). Eles são considerados hospedeiros mantenedores e sentinelas para estes parasitas, mas outros fatores também são determinantes da presença do parasito em determinada região.

Um desses fatores pode ser a presença e ou a ausência do flebotomineo, ou ainda a possibilidade de outros vetores atuarem no ciclo da transmissão do parasita. Outros fatores de importância seriam a própria distribuição geográfica e sua íntima relação com os movimentos populacionais, a disponibilidade de reservatórios, as modificações ambientais a baixa condição econômica e a distribuição do vetor (BASTOS; MADRID; LINHARES, 2015).

A caracterização da ambiência e dos fatores de risco que apresentam impacto direto sobre uma zoonose vem sendo descrita na literatura abrindo novas possibilidades frente à compreensão da dinâmica

da enfermidade. Neste contexto, verificou-se que as variáveis utilizando o modelo de equações estruturais, como localização do bairro, o teste Elisa e os sinais clínicos e apresentaram influencia relevante frente a presença de anticorpos *anti-Leishmania spp e anti T. cruzi*.

O mesmo ocorre nos resultados encontrados por Martins, (2018) que também apontam a localização dos domicílios e os sinais clínicos como fatores de influência sobre à presença de anticorpos anti-*Leishmania* spp; no entanto os mesmos autores concluíram que a idade, o sexo, a raça e o pelo curto também apresentaram-se como fatores de risco. Fernandes et al. (2016) ainda inferem que a característica do piso também impactaria sobre a sororreatividade diferindo, dos nossos achados.

De uma maneira geral os resultados do presente estudo determinaram que os fatores realmente impactantes sobre os riscos à reatividade frente à *Leishmania spp e á T. cruzi* foram á acurácia do teste sorológico utilizado para à sorologia e o grau de comprometimento da enfermidade que possam estar diretamente associados ao grau de parasitismos dos protozoários.

Também analisadas pelo SEM, as variáveis relacionadas diretamente à característica do hospedeiro como idade**,** porte, sexo, raça, grau de nutrição e pelagem não influenciaram a presença de anticorpos. Nesse sentido, a utilização do modelo de equação estrutural mostrou-se ser uma excelente ferramenta na associação dos fatores de risco que realmente tiveram influência sobre as enfermidades.

A região noroeste do estado de São Paulo apresenta áreas desmatadas para a pecuária e agricultura, sofrendo uma forte ação antrópica, corroborando assim, outros fatores de risco que devem ser futuramente investigados e um estudo recente, que considerou a vulnerabilidade socioecológica e o risco de possiblidade de zoonoses no Brasil, apontou que o estado de São Paulo apresenta um risco médio com base nos efeitos positivos e negativos da arborização da cidade, riqueza de mamíferos, asfaltamento da cidade, cobertura vegetal natural e

perda de vegetação. Essas características influenciaram na média de casos de doenças zoonóticas por 100.000 habitantes nos 27 estados brasileiros, de 2001 a 2019 (WINCK et al., 2020).

Araçatuba vem se destacando neste triste cenário, como área endêmica para Leishmaniose, desde o primeiro caso descrito por Luvizoto et al., (1999), tendo como suposta rota de disseminação da doença todos os municípios cortados pela, rodovia Marechal Rondon (CARDIM et al., 2016). Pelo exposto, outros estudos devem ser desenvolvidos com o objetivo de oferecer melhor compreensão das co-infecções e co-exposições, frente a patógenos intracelulares.

6 CONCLUSÃO

- A modelagem estatística revelou-se uma ótima ferramenta frente aos dados analisados.
- Observou-se a presença de sororreatividade cruzada entre os antígenos de *Leishmania spp* e *Trypanosoma cruzi.*
- Não foram observadas associações das variaveis: sexo do animal, raça, faixa etária e com a presença de anticorpos *anti-Leishmania* spp e *anti-T.cruzi*.
- Os testes sorologicos apresentaram associação com sinais clinicos.
- O teste de Elisa, o bairro e os sinais clínicos constituíram fatores de risco frente à presença de anticorpos anti-*Leishmania spp e anti-T.cruzi*.
- A variável latente -Reação cruzada- apresentou influência maior para RIFI *T. cruzi* do que para RIFI *Leishmania spp* havendo a associação entre a variável observável frente a sororreatividade.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA FIOCRUZ DE NOTÍCIAS. **Doença de Chagas**. Rio de Janeiro, 2013. Disponível em: https://agencia.fiocruz.br/doen%C3%A7a-de-chagas#:~:text=No%20Brasil%2C%20atualmente%20predominam%20os,casos%20isolados%20em%20outros%20estados. Acesso em: 4 mar. 2021.

ALEXANDRE, N. M. C.; COLUCI, M. Z. O. Content validity in the development and adaptation processes of measurement instruments. **Ciência & Saúde Coletiva**, Barueri, v. 16, n. 7, p. 3061–3068, 2011. DOI: https://doi.org/10.1590/S1413-81232011000800006.

ALMEIDA, A. B. P. F.; FARIA, R. P.; PIMENTEL, M. F. A.; DAHROUG, M. A. A.; TURBINO, N. C. M.; SOUSA, V. R. F. Inquérito soroepidemiológico de leishmaniose canina em áreas endêmicas de Cuiabá, Estado de Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 42, p. 156-159, 2009.

ALVAR, J.; BERN, C.; HERRERO, M.; DESJEUX, P.; CANO, J.; JANNIN, J.; BOER, M. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. **PLoS One**, San Francisco, v. 7, n. 5, p. e35671, 31 maio 2012. Disponível em: https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0035671. Acesso em: 15 maio 2020.

ALVAR, J.; CAÑAVATE, C.; MOLINA, R.; MORENO, J.; NIETO, J. Canine leishmaniasis. **Advances in Parasitology**, San Diego, v. 57, p. 1–88, 2004. DOI: 10.1016/S0065-308X(04)57001-X. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15504537/ Acesso em: 15 maio 2020.

ALVES, A. S. **Avaliação da sororreatividade cruzada entre a infecção por *Trypanosoma caninum* e a leishmaniose visceral canina.** 2012. 42 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2012.

ALVES, A. S.; MOUTA-CONFORT, E.; FIGUEIREDO, F. B.; OLIVEIRA, R. V. C.; SCHUBACH, A. O.; MADEIRA, M. F. Evaluation of serological cross-reactivity between canine visceral leishmaniasis and natural infection by Trypanosoma caninum. **Research in Veterinary Science**, London, v. 93, n. 3, p. 1329-1333, Dec. 2012. DOI: 10.1016/j.rvsc.2012.07.006. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0034528812002147. Acesso em: 4 mar. 2021.

AMORIM, L. D. A. F.; FIACCONE, R. L.; SANTOS, C. A. S. T.; MORAES, L. T. L. P.; OLIVEIRA, N. F.; OLIVEIRA, S. B.; SANTOS, T. N. L. **Modelagem com equações estruturais:** princípios básicos e aplicações. Relatório técnico. Salvador: Universidade Federal da Bahia, Instituto de Matemática, 2012. Disponível em: https://repositorio.ufba.br/bitstream/ri/17684/1/ebook_SEM_2012.pdf. Acesso em: 4 nov. 2022.

ANDRADE, J. P.; MARIN-NETO, J. A.; PAOLA, A. A.; VILAS-BOAS, F.; OLIVEIRA, G. M.; BACAL, F.; BOCHI, E. A.; ALMEIDA, D. R.; FRAGATA FILHO, A. A.; MOREIRA, M. C. V.; XAVIER, S. S.; OLIVEIRA JUNIOR, W. A.; DIAS, J. C. P. I Latin American guidelines for the diagnosis and treatment of Chagas cardiomyopathy. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia,** Rio de Janeiro, v. 97, n. 2, Supl. 3, p. 1-48, 2011.

ANURADHA, D.; PAL, R.; KATIYAR, J. C. Sex influenced population kinets of Leishmania donovani in hamster. **Indian Journal of Experimental Biology**, New Delhi, v. 28, p. 876-879, 1990.

ARAÚJO, F. M. G.; BAHIA, M. T.; MAGALHÃES, N. M.; MARTINS-FILHO, O. A.; VELOSO, V. M.; CARNEIRO, C. M.; TAFURI, W. L.; LANA, M. Follow-up of experimental chronic Chagas disease in dogs: use of polymerase chain reaction (PCR) compared with parasitological and serological methods. **Acta Tropica,** Amsterdam, v. 81, n. 1, p. 21-31, Jan. 2002. DOI: 10.1016/s0001-706x(01)00196-6. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11755429/. Acesso em: 15 maio 2020.

ARGOLO, A. M.; FELIX, M.; PACHECO, R.; COSTA, J. **Doença de Chagas e seus principais vetores no Brasil**. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz, 2008. p. 16-17. Disponível em: http://chagas.fiocruz.br/wp-content/uploads/2017/08/09-Doen%C3%A7a-de-Chagas-e-seus-principais-vetores-no-Brasil.pdf. Acesso em: 15 maio 2020.

BANETH, G.; SOLANO-GALLEGO, L. Tripanossomíase. *In:* GREENE, C. E. **Doenças infecciosas em cães e gatos**: Leishmanioses. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. p. 768-806.

BARR, S. C.; DENNIS, V. A.; KLEIN, T. R. Serologic and blood culture survey of *Trypanosoma cruzi* infection in four canine populations of southern Louisiana. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 52, n. 4, p. 570-573, 1991.

BASTOS, T.; MADRID, D. M.; LINHARES, G. Aspectos gerais da Leishmaniose Visceral. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 11, n. 22, 11 dez. 2015. Disponível em: http://www.conhecer.org.br/enciclop/2015c/agrarias/Aspectos%20gerais%20da%20leishmaniose.pdf. Acesso em: 1 dez. 2019.

BATISTA, D. G. J. **Estudos in vitro e in vivo atividade biológica de fluorquinolonas tiossemicarbozonas, diamidinas aromáticas e arilimidamidas sobre *Trypanosoma cruzi***. 2009. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2009. Disponível em: https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/4142/1/denise_batista_ioc_dout_2009.pdf. Acesso em: 12 nov. 2019.

BEASLEY, E. A.; PESSÔA-PEREIRA, D.; SCORZA, B. M.; PETERSEN, C. A. Epidemiologic, clinical and immunological consequences of co-infections during Canine Leishmaniosis. **Animals,** Basel, v. 11, n. 11, p. 3206, 10 nov. 2021. DOI: 10.3390/ani11113206. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34827938/. Acesso em: 20 maio 2022.

BEIGUELMAN, B. **Curso de bioestatística básica**. 4. ed. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1996.

BENTLER, P. M. Comparative fit indexes in structural models. **Psychological Bulletin,** Washington, DC, v. 107, n. 2, p. 238-246, 1990. DOI: doi: 10.1037/0033-2909.107.2.238.

BENTLER, P. M.; HU, L. T. Cutoff criteria for fit indexes in covariance structure analysis: conventional criteria versus new alternatives. **Structural Equation Modeling**, Philadelphia, v. 6, n. 1, p. 1-55, 1999. DOI: https://doi.org/10.1080/10705519909540118.

BIGNARDE, J.; SANT'ANA, T. M.; MONTEIRO, M. E. Z.; BOTTARI, F.; NEVES, M. F. Doença de chagas em cães. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária,** Garça, v. 6, n. 11, 5 p., 2008. Disponível em: http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/sB5ThlT3qmGRiQt_2013-6-14-10-13-11.pdf. Acesso em: 13 nov. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Biblioteca Virtual em Saúde. **Doença de Chagas**. Brasília-DF, 2005. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/dicas-em-saude/2057-doenca-de-chagas#:~:text=%C3%89%20uma%20doen%C3%A7a%20transmiss%C3%ADvel%20causada,especialmente%20as%20card%C3%ADacas%20e%20digestivas. Acesso em: 4 mar. 2021.
BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde - FUNASA.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde - FUNASA. **Doença de Chagas.** Brasília-DF, 2012. Disponível em: http://www.saudeemmovimento.com.br/conteudos/conteudo_print.asp?cod_noticia=658#:~:text=Reservat%C3%B3rios%20Al%C3%A9m%20do%20homem%2C%20mam%C3%ADferos,cu%C3%ADca%2C%20morcego%2C%20dentre%20outros. Acesso em: 4 mar. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica.** 7. ed. Brasília-DF, 2009. Disponível em:

https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_epidemiologica_7ed.pdf. Acesso em: 4 mar. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de vigilância e controle da Leishmaniose Visceral**. Brasília-DF, 2006. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmaniose_visceral.pdf. Acesso em: 4 mar. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Saúde de A a Z. **Doença de Chagas**. Brasília-DF, 2018. Disponível em: <http://portalms.saude.gov.br/saude-de-a-z/doenca-de-chagas>. Acesso em: 4 mar. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Doenças tropicais negligenciadas. **Boletim Epidemiológico,** Brasília-DF, n. esp., 76 p. mar. 2021. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-deconteudo/publicacoes/boletins/boletins-epidemiologicos/especiais/2021/boletim_especial_doencas_negligenciadas.pdf. Acesso em: 4 mar. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Manual de vigilância, prevenção e controle de zoonoses**. Brasília-DF, 2016. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_prevencao_controle_zoonoses.pdf. Acesso em: 4 mar. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Manual de vigilância da Leishmaniose Tegumentar**. Brasília-DF, 2017. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_leishmaniose_tegumentar.pdf. Acesso em: 4 mar. 2021.

BRASIL. Secretaria da Saúde do Estado do Ceará. **Boletim Epidemiológico Leishmaniose Visceral.** Fortaleza, 19 dez. 2019. Disponível em: https://www.saude.ce.gov.br/wp-content/uploads/sites/9/2018/06/boletim_leishimaniose_20_12_2019.pdf. Acesso em: 8 mar. 2021

BRENER, Z.; ANDRADE, Z. A.; BARRAL-NETTO, M. Diagnóstico laboratorial da infecção pelo *Trypanosoma cruzi In:* BRENER, Z.; ANDRADE, Z. A. **Trypanosoma cruzi e Doença de Chagas**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p. 344-378.

BRIFFOD, C. **Revue actuelle em matière de leishmaniose canine**. 2011. 101 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Université Paul-Sabatier de Toulouse, Toulouse, 2011. Disponível em: https://oatao.univ-toulouse.fr/4968/1/briffod_4968.pdf. Acesso em: 4 mar. 2021.

CAMARGO, M. E. Fluorescent antibody test for the sorodiagnosis of American Tripanosomiasis: technical modification employing preserved culture forms of *Trypanosoma cruzi* in a slide test. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, v.8, p.227- 234, 1966.

CAPP, E.; NIENOV, O. H. (Org.). **Bioestatística quantitativa aplicada**. Porto Alegre: Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Ginecologia e Obstetrícia, 2020. v. 1. 260 p.

CARDIM, M. F. M.; GUIRADO, M. M.; DIBO, M. R.; CHIARAVALLOTI NETO, F. Visceral leishmaniasis in the state of Sao Paulo, Brazil: spatial and space-time analysis. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 50, p. 48, 11 ago. 2016. DOI: 10.1590/S1518-8787.2016050005965. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27533364/. Acesso em: 12 abr. 2020.

CARDOSO, R. F.; MELO, B. G.; PEREIRA, W. M. M.; PALÁCIOS, V. R. C. M.; BARBOSA, A. V.; GONÇALVES, N. V. Estudo socioepidemiológico e espacial da leishmaniose tegumentar americana em município do Pará. **Revista Paraense de Medicina**, Belém, v. 29, n. 3, p. 29-36, 2015.

CARRANZA-TAMAYO, C. O.; CARVALHO, M. S. L.; BREDT, A.; BOFIL, M. I. R.; RODRIGUES, R. M. B.; SILVA, A. D.; CORTEZ, S. M. F. C.; ROMERO, G. A. S. Autochthonous visceral leishmaniasis in Brasília, Federal District, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 43, p. 396-399, 1 ago. 2010. DOI: 10.1590/S0037-86822010000400012 Disponível em: https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/PpVRb97FsLqn8HWKGRvBC8J/?lang=en. Acesso em: 11 fev. 2020.

CERETTI JÚNIOR, W.; VENDRAMI, D. P.; MATOS-JUNIOR, M. O.; RIMOLDI-RIBEIRO, A.; ALVAREZ, J. V.; MARQUES, S.; DUARTE, A. N.; SILVA, R. A.; ROSA, J. A.; MARELLI, M. T. Occurrences of triatomines (Hemiptera: Reduviidae) and first reports of Panstrongylus geniculatus in urban environments in the city of São Paulo, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 60, article e33, 6 p., 19 jul. 2018. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/S1678-9946201860033. Acesso em: 4 mar. 2021.

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. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 44, n. 2, p. 232-242, 2011. DOI: https://doi.org/10.1590/S0037-86822011005000014. Disponível em: https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/GhB6vk7cWDBqdggRns4PdBx/?lang=en. Acesso em: 13 ago. 2020.

COSTA, P. L. **Comportamento da fauna de flebotomíneos, com ênfase em Lutzomyia longipalpis, em área endêmica para leishmaniose visceral no município de Passira, agreste de Pernambuco**. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2011. Disponível em: https://www.cpqam.fiocruz.br/bibpdf/2011costa-pl.pdf. Acesso em: 13 ago. 2020.

DAMÁSIO, B. Uso da análise fatorial exploratória em psicologia. **Avaliação Psicológica**, Campinas, v. 11, n. 2, p. 213–228, 2012.

DANTAS-TORRES, F.; BRITO, M. E. F.; BRANDÃO-FILHO, S. P. Seroepidemiological suervey on canine leishmaniasis among dogs from an urban área of Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 140, n. 1-2, p. 54-60, 2006. DOI: doi: 10.1016/j.vetpar.2006.03.008.

DANTAS-TORRES, F.; PAIVA-CAVALCANTI, M.; FIGUEREDO, L. A.; MELO M. F.; SILVA, F. J.; SILVA, A. L.; ALMEIDA, E. L.; BRANDÃO-FILHO, S. P. Cutaneous and visceral leishmaniosis in dogs from a rural community in northeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 170, n. 3-4, p. 313-317, 2010. DOI: https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.02.019.

DNDIAL - DRUGS FOR NEGLECTED DISEASES INITIATIVE AMERICA LATINA . **O que é a doença de Chagas?** Rio de Janeiro, 2021. Disponível em: https://www.dndial.org/doencas/doenca-chagas/. Acesso em: 4 mar. 2021.

DUXBURY R. E.; SADUN E. H. Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of visceral leishmaniasis. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Northbrook, v. 13, p. 525-529, jul. 1964. DOI: 10.4269/ajtmh.1964.13.525. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14196047/. Acesso em: 13 ago. 2020.

EPSKAMP, S.; STUBER, S.; NAK, J.; VEENMAN, M.; JORGENSEN, T. D. **semPlot**: path diagrams and visual analysis of various SEM packages' output. [R Package]. [S.l.], 2019. Disponível em: https://CRAN.R-project.org/package=semPlot. Acesso em: 29 jul. 2022.

FERNANDES, A. R. F.; PIMENTA, C. L. R. M.; VIDAL, I. F.; OLIVEIRA, G. C.; SARTORI, R. S.; ARAÚJO, R. B.; MELO, M. A.; LANGONI, H.; AZEVEDO, S. S. Risk factors associated with seropositivity for Leishmania spp. and Trypanosoma cruzi in dogs in the state of Paraiba, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 25, n. 1, p. 90-98, 11 mar. 2016.

FIORAVANTI, C. Barbeiros chegam à Grande São Paulo. **Revista FAPESP**, São Paulo, n. 281, jul. 2019. Disponível em:

https://revistapesquisa.fapesp.br/barbeiros-chegam-a-grande-sao-paulo/. Acesso em: 18 abr. 2021.

FONSECA, A. M. **Diagnóstico de leishmaniose visceral utilizando proteínas de Leishmania infantum com função desconhecida**. 2013. Dissertação (Mestrado em Parasitologia) - Instituto de Ciência Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013. Disponível em: http://www.parasitologia.icb.ufmg.br/defesas/449M.PDF. Acesso em: 23 jan. 2020.

FONSECA, R.; SILVA, P.; SILVA, R. Acordo inter-juízes: o caso do coeficiente kappa. **Laboratório de Psicologia**, Lisboa, v. 5, n.1, p. 81-90, 2007.

FREITAS, J. C. C. **Subsídios para o estudo da Leishmaniose Visceral Canina na cidade de Fortaleza, Ceará**. 2011. Dissertação (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2011. Disponível em: http://www.uece.br/ppgcvwp/wp-content/uploads/sites/6/2019/08/joseclaudiocarneirod.pdf. Acesso em: 12 jan. 2020.

GALLUCCI, M.; JENTSCHKE, S. **SEMLj**: jamovi SEM Analysis. [S.l.], 2021. Disponível em: https://semlj.github.io/. Acesso em: 29 jul. 2022

GALLUZZI, L.; CECCARELLI, M.; DIOTALLEVI, A.; MENOTTA, M.; MAGNANI, M. Real-time PCR applications for diagnosis of Leishmaniose. **Parasites and Vectors**, London, v. 11, article 273, 2 may 2018. doi: 10.1186/s13071-018-2859-8. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1186/s13071-018-2859-8. Acesso em: 22 mai. 2021

GALVÃO, C. (Org.). **Vetores da doença de chagas no Brasil**. Curitiba: Sociedade Brasileira de Zoologia, 2014. Disponível em: https://static.scielo.org/scielobooks/mw58j/pdf/galvao-9788598203096.pdf. Acesso em: 21 jun. 2020.

GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, Rio de Janeiro, v. 7, n. 3, p. 338–349, set. 2004. DOI: 10.1590/S1415-790X2004000300011. Disponível em: https://www.scielo.br/j/rbepid/a/R8mCHPzNCQw6n4npxBRxCtt/. Acesso em: 21 jun. 2020.

GÜRTLER, R. E.; CECERE, M. C.; LAURICELLA, M. A.; CARDINAL, M. V.; KITRON, U.; COHEN, J. E. Domestic dogs and cats as sources of Trypanosoma cruzi infection in rural northwestern Argentina. **Parasitology**, London, v. 134, n. 1, p. 69-82, 2007. DOI: doi: 10.1017/S0031182006001259.

GÜRTLER, R. E.; CARDINAL, M. V. Reservoir host competence and the role of domestic and commensal hosts in the transmission of Trypanosoma cruzi. **Acta Tropica**, Amsterdam, v. 151, p. 32–50, nov. 2015. DOI: 10.1016/j.actatropica.2015.05.029. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26051910/. Acesso em: 21 jun. 2020.

GÜRTLER, R. E.; CECERE, M. C.; RUBEL, D. N.; SCHWEIGMANN N. J. Chagas disease in north-west Argentina: association between Trypanosoma cruzi parasitaemia in dogs and cats and infection rates in domestic Triatoma infestans. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, Oxford, v. 87, n. 1, p. 12-15, 1 jan. 1993.

JORGENSEN, T. D.; PORNPRASERTMANIT, S.; SCHOEMANN, A. M.; ROSSEEL, Y.; MILLER, P.; QUICK, C.; GARNIER-VILLARREAL, M.; SELIG, J.; BOULTON, A.; PREACHER, K.; COFFMAN, D.; RHEMTULLA, M.; ROBITZSCH, A.; ENDERS, C.; ARSLAN, R.; CLINTON, B.; PANKO, P.; MERKLE, E.; CHESNUT, S.; BYRNES, J.; RIGHTS, J. D.; LONGO, Y.; MANSOLF, M.; BEN-SHACHAR, M. S.; RÖNKKÖ, M. **semTools**: useful tools for structural equation modeling. R Package Version 0.5-6. [S.l.], 2019. Disponível em: https://CRAN.R-project.org/package=semTools. Acesso em: 29 jul. 2022.

KING, A. P.; ECKERSLEY, R. J. Inferential Statistics III: nonparametric hypothesis testing. *In:* KING, A. P.; ECKERSLEY, R. J. **Statistics for biomedical engineers and scientists**. Amsterdam: Elsevier, 2019. p. 119-145. DOI.10.1016/C2018-0-02241-0. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/topics/mathematics/mann-whitney-u-test. Acesso em: 21 out. 2022.

KOUTINAS, A. F.; KOUTINAS, C. K. Pathologic mechanisms underlying the clinical findings in canine leishmaniosis due to leishmaniainfantum/chagasi. **Veterinary Pathology**, Thousand Oaks, v. 51, n. 2, p. 527–538, 7 fev. 2014. DOI:10.1177/0300985814521248. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24510947/. Acesso em: 19 jan. 2022.

LAPPIN, M. R. Infecções protozoárias e mistas. *In:* ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de medicina veterinária interna**: moléstias do cão e do gato. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p. 437-438.

LAURENTI, M. D. Correlação entre o diagnóstico parasitológico e sorológico na leishmaniose visceral americana canina. **Boletim Epidemiológico Paulista - BEPA**, São Paulo, v. 6, n. 67, p. 13–23, 2009. Disponível em: https://docs.bvsalud.org/biblioref/ses-sp/2009/ses-18617/ses-18617-368.pdf. Acesso em: 16 fev. 2022.

LIMA, R. S.; TEIXEIRA, A. B.; LIMA, V. L. S. Doença de chagas: uma atualização bibliográfica. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 51, n. 2, p. 103-106, 2019. DOI: 10.21877/2448-3877.201900727. Disponível em: http://www.rbac.org.br/wp-content/uploads/2019/10/RBAC-vol-51-2-2019-ref-727.pdf. Acesso em: 10 jan. 2021.

LIRA, R. A. **Diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina**: avaliação do desempenho dos kits EIE-Leishmaniose-VisceralCanina-Bio-Manguinhos e IFI-Leishmaniose-VisceralCanina-Bio-Manguinhos. 2005. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Fundação Oswaldo Cruz Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães Departamento de Saúde Coletiva, Recife, 2005.

LUCHEIS, S. B.; SILVA, A. V.; ARAÚJO JR., J. P.; LANGONI, H.; MEIRA, D. A.; MARCONDES-MACHADO, J. Trypanosomatids in dogs belonging to individuals with chronic Chagas' disease living in Botucatu town and surrounding region, São Paulo State, Brazil. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, Botucatu, v. 11, p. 492-509, 1 dez. 2005. DOI: https://doi.org/10.1590/S1678-91992005000400009. Disponível em: https://www.scielo.br/j/jvatitd/a/TNrCGpbDydbVWL78GNry6zs/. Acesso em: 10 nov 2019.

LUCIANO, R. M. et al. Avaliação da reatividade cruzada entre antígenos de *Leishmania spp* e *Trypanosoma cruzi* na resposta sorológica de cães pela técnica de imunofluorescência indireta (RIFI). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 46, n. 3, p. 181, 1 jun. 2009.

LUKES, J.; MAURICIO, I. L.; SCHONIAN, G.; DUJARDIN, J. C.; SOTERIADOU, K.; DEDET, J. P.; TINTAYA, K. W. Q.; JIRKU, M.; CHOCHOLOVA, E.; PRATIONG, F.; OBORNIK, M.; HORAK, A.; AYALA, F. J.; MILES, M. A. Evolutionary and geographical history of the Leishmania donovani complex with a revision of current taxonomy. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America - PNAS**, Washington-DC, v. 104, n. 22, p. 9375-9380, May 2007. DOI: 10.1073/pnas.0703678104. Disponível em: https://www.pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.0703678104. Acesso em: 10 jan. 2021.

LUVIZOTTO, M. C. R.; BIAZZONO, L.; EUGÊNIO F. R.; ANDRADE, A. L. Leishmaniose Visceral canina autóctone no Município de Araçatuba-SP. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CLÍNICOS VETERINÁRIOS DE PEQUENOS ANIMAIS, 20., 1999, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia, 1999. p. 24-25.

MACKINNON, D. P. **Introduction to statistical mediation analysis**. New York: Routledge Academic, 2000. 488 p.

MAIA-ELKHOURY, A. N. S. Visceral leishmaniasis in Brazil: trends and challenges. Leishmaniose visceral no Brasil: evolução e desafios. **Cadernos de Saúde Pública,** Rio de Janeiro, v. 24, n. 12, p. 2941–2947, 2008.

MARTINS, K. R. R. **Fatores associados à ocorrência de Leishmaniose Visceral em cães de área urbana após aplicação de medidas de proteção individual**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araçatuba, 2018. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/152645/martins_krr_me_araca_int.pdf?sequence=3. Acesso em: 6 ago 2022.

MARTINS, N. S.; COELHO, G. B.; SANTOS, L. S.; OLIVEIRA, R. A.; SILVA, A. L. A.; MELO, F. A. Alterações da matriz extracelular esplênica em cães naturalmente infectados com Leishmania (Leishmania) infantum chagasi. **Ciência Animal Brasileira,** Goiânia, v. 16, n. 1, p. 103-115, jan./mar. 2015. https://doi.org/10.1590/1089-68916i123500. Disponível em: https://www.scielo.br/j/cab/a/RtVGQBx6cSC8cjzLgbbP3XM/?lang=pt. Acesso em: 29 mar 2020.

MONTALVO, A. M.; FRAGA, J.; MONZOTE, C. L.; GARCIA, G.; FONSECA, L. Diagnóstico de la leishmaniasis: de la observación microscópica del parásito a la detección del ADN. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, Habana, v. 64, n. 2, 2012.

NELSON, R. W.; COUTO, C. G. Tripanossomíase Americana. *In:* NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina interna de pequenos animais**. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. p. 1266-1267.

NUNES, J. B. **Inquérito sorológico e molecular de Leishmaniose Visceral Canina no município de Alfenas-MG**. 84 f. 2015. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL, Alfenas, 2015.

OPAS/OMS - ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. Leishmanioses: informe epidemiológico das américas. **Informe de Leishmanioses,** Washington-DC, n. 7, 8 p., mar. 2019. Disponível em: https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/50505/2019-cde-leish-informe-epi-das-americas.pdf?ua=1. Acesso em: 19 mar. 2021.

ORDÓÑEZ, D.; FERNÁNDEZ-SOTO, P.; FERNÁNDEZ-MARTÍN, A. M.; CREGO-VICENTE, B.; FEBRER-SENDRA, B.; DIEGO, J. G.-B.; VICENTE, B.; LÓPEZ-ABÁN, J.; BELHASSEN-GARCÍA, M.; MURO, A.; PATARRAOYO, M. A. A Trypanosoma cruzi genome tandem repetitive satellite DNA sequence

as a molecular marker for a LAMP assay for diagnosing Chagas' Disease. **Disease Markers**, New York, article 8074314, 22 Feb. 2020. DOI: 10.1155/2020/8074314.

PAHO - PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. **Chagas disease.** Washington-DC, 2009. Disponível em: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=2180%3A2009-chagas-disease&catid=1719%3Apcpcd-ecuador2&Itemid=1873&lang=en. Acesso em: 18 jun. 2018.

PEREIRA, M. G. **Epidemiologia**: teoria e prática. Rio de Janeiro: Guanabara, 2001.

PILATI, R.; LAROS, J. A. Modelos de equações estruturais em psicologia: conceitos e aplicações. **Psicologia: Teoria e Pesquisa**, Brasília-DF, v. 23, n. 2, p. 205–216, jun. 2007. DOI: https://doi.org/10.1590/S0102-37722007000200011.

PINEDA, J. P.; LUQUETTI, A.; CASTRO, C. Comparação entre o xenodiagnóstico clássico e artificial na fase crônica da doença de Chagas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical,** Uberaba, v. 31, n. 5, p. 473-480, 1998. DOI: https://doi.org/10.1590/S0037-86821998000500008. Disponível em: https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/pddYJ6gntQtrF5Vt8BZpTMS/?lang=pt. Acesso em: 19 mar. 2021.

PIRES, M. C.; CASTRO, M. B.; LIEBER, Z. V.; MENEZES, T. P.; AOKI, R. Y. S. **Estatística não paramétrica básica no software R:** uma abordagem por resolução de problemas. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Estatística, 2018. Disponível em: http://www.est.ufmg.br/portal/arquivos/rts/RTE_02_2018.pdf. Acesso em: 24 set. 2022.

PORFIRIO, G. E. O.; SANTOS, F. M.; MACEDO, G. C.; BARRETO, W. T. G.; CAMPOS, J. B. V.; MEYERS, A. C.; ANDRÉ, M. R.; PERLES, L.; OLIVEIRA, C. E; XAVIER, S. C. C.; ANDRADE, G. B.; JANSEN, A. M.; HERRERA, H. M. Maintenance of Trypanosoma cruzi, T. evansi and Leishmania spp. by domestic dogs and wild mammals in a rural settlement in Brazil-Bolivian border. **International Journal for Parasitology. Parasites and Wildlife**, Oxford, v. 7, n. 3, p. 398–404, 1 dez. 2018. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30370220/ Acesso em: 10 mar. 2021.

RIBEIRO, C. R.; GONÇALVES, C. A.; CRUZ, L. M.; GALERA, P. D. Prevalência da Leishmaniose visceral canina e coinfecções em região periurbana no Distrito Federal – Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 20, artigo e-49589, 8 p. 2019. DOI: 10.1590/1089-6891v20e-

49589. Disponível em: https://www.scielo.br/j/cab/a/dq8WKjcJPPv7ddg93b4ZyZJ/?lang=pt&format=pdf. Acesso em: 10 mar. 2021.

ROCHAS, L. Leishmanioses: conheça os insetos transmissores e saiba como se prevenir. **Notícias Fiocruz**, Rio de Janeiro, 23 ago. 2019. Disponível em: https://portal.fiocruz.br/noticia/leishmanioses-conheca-os-insetos-transmissores-e-saiba-como-se-prevenir. Acesso em: 10 fev. 2020.

ROSSEEL, Y. lavaan: an R package for structural equation modeling. **Journal of Statistical Software**, Alexandria, v. 48, n. 2, 36 p., *2019.* Disponível em: https://www.jstatsoft.org/article/view/v048i02. Acesso em: 29 jul. 2022.

ROSYPAL, A. C.; CORTÉS-VECINO, J. A.; GENNARI, S. M.; DUBEY, J. P.; TIDWELL, R. R.; LINDSAY, D. S. Serological surgey of Leishmania infartum and Trypanosoma cruzi in dogs from urban areas of Brazil and Colombia. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 149, n. 3-4, p. 172-177, 2007.

SANGENIS, L. H. C.; NIELEBOCK, M. A. P.; SANTOS, C. S.; SILVA, M. C. C.; BENTO, G. M. R. Chagas disease transmission by consumption of game meat: systematic review. **Revista Brasileira de Epidemiologia,** Rio de Janeiro, , v. 19, n. 4, p. 803–811, out./dez. 2016. DOI: 10.1590/1980-5497201600040010. Disponível em: https://www.scielo.br/j/rbepid/a/C5Z4GNTtYxxtWfRkwRrvqRM/?lang=pt&format=pdf. Acesso em: 31 abr. 2020.

SCANDAR, S. A. S.; SILVA, R. A.; CARDOSO JÚNIOR, R. P.; OLIVEIRA, F. H. Ocorrência de leishmaniose visceral americana na região de São José do Rio Preto, Estado de São Paulo, Brasil. **Boletim Epidemiológico Paulista - BEPA**, São Paulo, v. 8, n. 88, p. 13–22, abr. 2011. Disponível em: https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1060236. Acesso em: 14 fev. 2020.

SILVA, A. P.; SANTOS, F. E.; SILVA, F. G.; CAVALCANTE, Y. C. S.; ANDRÉ, W. P. P.; SILVA, K. Q. Prevalência da Leishmaniose visceral canina no município de Jaguaribe, Ceará. **Ciência Animal**, Fortaleza, v. 28, n. 4, p. 1-4, 2018. Disponível em: http://www.uece.br/cienciaanimal/dmdocuments/01.%20%20V%20CESMEV%20-%20ESTUDO%20DIRIGIDO.pdf. Acesso em: 15 ago. 2022.

SILVA, R. A. Estado atual da vigilância entomológica da doença de Chagas no estado de São Paulo. **Brazilian Journal of Health Review**, São José dos Pinhais, v. 2, n. 2, p. 742-755, mar.-abr. 2019.

SILVA, R. B. S.; MENDES, R. S.; SANTANA, V. L.; SOUZA, H. C.; RAMOS, C. P. S.; SOUZA, A. P.; ANDRADE, P. P.; MELO, M. A. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral canina na zona rural do semiárido paraibano e análise de técnicas de diagnóstico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 36, n. 7, p. 625-629, jul. 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0100-736X2016000700011. Acesso em: 4 abr. 2021.

SIMÕES, M. V.; ROMANO, M. M. D.; SCHMIDT, A.; MARTINS, K. S. M.; MARIN-NETO, J. A. Cardiomiopatia da Doença de Chagas. **International Journal of Cardiovascular Sciences**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 2, p. 173-189, 2018. Disponível em: https://www.scielo.br/j/ijcs/a/X6TQyt7tnM7cQn5SLVTnYpz/?format=pdf&lang=pt. Acesso em: 4 mar. 2021.

SNOWDEN, K. F.; KJOS, S. A. Tripanossomíase. *In:* GREENE, C. E. **Doenças infecciosas em cães e gatos**: Leishmanioses. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. p. 760-768.

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. **Parasites & Vectors**, London, v. 4, p. 1-16, 2011.

SOUZA, A. I.; PAULINO-JÚNIOR, D.; SOUSA, M. G.; CAMACHO, A. A. Aspectos clínico-laboratoriais da infecção natural por *Trypanosoma cruzi* em cães de Mato Grosso do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 5, p. 1351-1356, ago. 2008. Disponível em: https://www.scielo.br/j/cr/a/Kw8YCykdTdj4pDMdbFQXphp/?lang=pt. Acesso em: 27 ago. 2021.

SRIVASTAVA, P.; SHANKAR, P.; MISHRA, J.; SINGH, S. Unusual Case of Resistance to Amphotericin B in Visceral Leishmaniasis in a Region in India Where Leishmaniasis Is Not Endemic. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 49, n. 8, p. 3088–3091, 1 ago. 2011. Disponivel em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27175732/. Acesso em: 27 ago. 2021.

SUNDAR, S.; RAI, M. Laboratory diagnosis of Visceral Leishmaniasis. **Clinical and Vaccine Immunology**, Washington-DC, v. 9, n. 5, p. 951–958, 1 set. 2002.

THE JAMOVI PROJECT. **Jamovi***.* Version 2.3. [S.l.], 2022. Disponível em: https://www.jamovi.org. Acesso em: 29 jul. 2022.

TILLEY, L. P.; SMITH. F. W. K. Doença de Chagas: Tripanossomíase Americana. *In:* TILLEY, L. P.; SMITH. F. W. K. **Consulta veterinária em 5 minutos:** espécies canina e felina. 2. ed. Barueri: Manole, 2003. p. 538.

TORRES, D. F. Situação atual da epidemiologia da leishmaniose visceral em Pernambuco. **Revista de Saúde Pública**, v. 40, n. 3, p. 537–578, 2006. DOI: https://doi.org/10.1590/S0034-89102006000300024.

TRAJANO-SILVA, L. A. M.; PESSOA-E-SILVA, R.; GONÇALVES-DE-ALBUQUERQUE, S. C.; MORAIS, R. C. S.; COSTA-OLIVEIRA, C. N.; GOES, T. C.; PAIVA-CAVALCANTI, M. Standardization and evaluation of a duplex real-time quantitative PCR for the detection of Leishmania infantum DNA: a sample quality control approach. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 50, n. 3, p. 350–357, jun. 2017.

TRONCARELLI, M. Z. **Infecção por Leishmania spp. e/ou por Trypanosoma cruzi em cães provenientes de área endêmica e não endêmica para Leishmaniose Visceral Canina**. 2008. 133 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2008.Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/98326/troncarelli_mz_me_botfmvz.pdf?sequence=1&isAllowed=y.Acesso em: 14 out. 2019.

TRONCARELLI, M. Z.; CAMARGO, J. B.; MACHADO, J. G.; LUCHEIS, S. B.; LANGONI, H. Leishmania spp. and/or Trypanosoma cruzi diagnosis in dogs from endemic and nonendemic areas for canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 164, n. 2-4, p. 118-123, 14 out. 2009. DOI: 10.1016/j.vetpar.2009.06.027. Disponivel em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19625128/ Acesso em: 14 out 2019

VIOL, M. A. **Detecção de reações cruzadas por leishmania spp. e trypanosoma spp. em cães pelo ensaio imunoenzimático indireto, pela reação de imunofluorescência indireta e reação em cadeia de polimerase**. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araçatuba, 2011.

VIOL, M. A.; LIMA, V. M.; AQUINO, M. C.; GALLO, G.; ALVES, I. P.; GENEROSO, D.; PERRI, S. H.; LUCHEIS, S. B.; LANGONI, H.; NUNES, C. M.; BRESCIANI, K. D. Detection of cross infections by *Leishmania spp*. and *Trypanosoma spp*. in dogs using indirect immunoenzyme assay, indirect fluorescent antibody test and polymerase chain reaction. **Parasitology Research,** Heidelberg, v. 111, n. 4, p. 1607-1613, Oct. 2012. DOI: 10.1007/s00436-012-2999-2. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/s00436-012-2999-2. Acesso em: 27 ago. 2021.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Leishmaniasis**. Geneva, 2020. Disponível em: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis. Acesso em: 29 abr. 2021.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION: WHO. **Leishmaniasis**. Geneva, 2022. Disponível em: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>. Acesso em: 25 mar. 2022.

ZAFFARONI, E.; RUBAUDO, L.; LANFRANCHI, P.; MIGNONE, W. Epidemiological patterns of canine leishmaniosis in Western Liguria (Italy). **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 81, n. 1, p.11-19, 1999. DOI: https://doi.org/10.1016/S0304-4017(98)00237-4

ZANETTE, M. F. **Comparação entre os métodos de ELISA, imunofluorescência indireta e imunocromatografia para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina.** 2006. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araçatuba, 2006. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/handle/11449/92183?show=full. Acesso em: 9 jan. 2020.

ZUQUE, M. A. S. **Participação de gambás e cães domiciliados como reservatórios de Leishmania infantum e Trypanosoma cruzi georreferenciados nos municípios da Regional de Saúde de Três Lagoas – MS**. 2016. Tese (Doutorado em Doenças Tropicais) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Botucatu, 2016.

WINCK, G. R.; RAIMUNDO, R. L. G.; FERNANDES-FERREIRA, H.; BUENO, M. G.; D'ANDREA, P. S.; ROCHA, F. L.; CRUZ, G. L. T.; VILAR, E. M.; BRANDÃO, M.; CORDEIRO, J. L. P.; ANDREAZZI, C. S. Socioecological vulnerability and the risk of zoonotic disease emergence in Brazil. **Science Advances**, v. 8, n. 26, eabo5774, 11 p., 2022. Disponível em: https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/handle/icict/53918/GiseleR.Winck_CeciliaAndreazzi_etal_IOC_2022%20-%20Copia.pdf;jsessionid=A6FCE6A303C0144593FDB8FD9B881E9B?sequence=2. Acesso em: 10 jan. 2022

ANEXO A - RESULTADOS DAS PROVAS SOROLÓGICAS

Amostra	DPP	ELISA	RIFI-Leish	RIFI-T.cruzi
2017	-	NReag	0	0
2017	+	Reag	0	0
2017	-	NReag	0	0
2017	+	Reag	0	0
2017	+	Reag	0	0
2017	+	Reag	0	0
2017	-	NReag	0	0
2017	-	NReag	0	0
2017	+	Reag	0	0
2017	+	Reag	0	0
2017	+	Reag	0	0
2017	-	NReag	0	0
2017	+	Reag	640	0
2017	-	NReag	0	0
2017	-	NReag	0	0
2017	+	Reag	640	0
2017	+	Reag	0	0
2017	+	Reag	0	0
2017	+	Reag	640	0
2017	+	Reag	640	640
2017	+	Reag	40	160
2017	+	Reag	0	0
2017	+	Reag	320	80
2017	+	Reag	40	40
2017	+	Reag	320	640
2017	+	Reag	0	0
2017	-	NReag	40	0
2017	+	Reag	640	320
2017	-	NReag	40	0
2017	+	Reag	0	0
2017	+	Reag	0	0
2017	+	Reag	320	160
2017	+	Reag	320	320
2017	+	Reag	320	640
2017	+	Reag	0	0
2017	+	Reag	320	320
2017	+	Reag	0	0
2017	+	Reag	320	40
2017	+	Reag	640	320
2017	+	Reag	0	0
2017	+	Reag	0	0
2017	+	Reag	640	640

2017	+	Reag	0	0
2017	+	Reag	0	0
2017	+	Reag	320	640
2017	+	Reag	320	320
2017	+	Reag	640	640
2017	-	NReag	0	0
2017	+	Reag	0	0
2017	+	Reag	160	320
2017	+	Reag	160	0
2017	+	Reag	0	640
2017	+	Reag	160	320
2017	-	NReag	0	0
2017	+	Reag	640	640
2017	+	Reag	0	0
2017	+	Reag	0	0
2017	+	Reag	40	40
2017	+	Reag	320	320
2017	+	Reag	40	80
2017	+	Reag	0	0
2017	-	NReag	0	40
2017	-	NReag	0	40
2017	+	Reag	160	160
2017	+	Reag	640	640
2017	-	NReag	0	0
2017	+	Reag	0	0
2017	+	Reag	0	0
2017	-	NReag	0	0
2017	+	Reag	0	0
2017	+	Reag	0	0
2017	+	Reag	0	0
2017	-	NReag	0	0
2017	+	Reag	0	0
2017	+	Reag	320	80
2017	+	Reag	0	0
2017	-	NReag	0	0
2017	+	Reag	0	0
2017	+	Reag	0	0
2017	-	NReag	0	0
2017	+	Reag	0	0
2017	+	Reag	0	0
2017	+	Reag	0	0
2017	+	Reag	640	80
2017	-	NReag	0	0
2017	+	Reag	0	0
2017	+	Reag	0	0
2017	+	Reag	160	160

2017	+	Reag	0	0
2017	+	Reag	640	160
2017	+	Reag	0	0
2017	+	Reag	640	160
2017	-	NReag	0	0
2017	+	Reag	0	0
2018	+	Reag	80	80
2018	+	Reag	0	80
2018	+	Reag	80	0
2018	+	Reag	320	160
2018	+	Reag	80	40
2018	-	NReag	0	0
2018	+	Reag	80	40
2018	+	Reag	160	160
2018	+	Reag	640	640
2018	+	Reag	80	80
2018	+	Reag	0	0
2018	+	Reag	160	80
2018	+	Reag	80	80
2018	+	Reag	80	80
2018	+	Reag	160	640
2018	+	Reag	320	640
2018	+	Reag	80	320
2018	+	Reag	80	40
2018	-	NReag	0	0
2018	+	Reag	320	320
2018	+	Reag	80	80
2018	+	Reag	640	640
2018	+	Reag	80	80
2018	+	Reag	0	0
2018	+	Reag	160	80
2018	+	Reag	320	160
2018	+	Reag	320	320
2018	+	Reag	640	640
2018	+	Reag	0	0
2018	+	Reag	320	640
2018	+	Reag	0	0
2018	+	Reag	160	160
2018	+	Reag	640	640
2018	+	Reag	640	640
2018	+	Reag	320	320
2018	+	Reag	80	0
2018	+	Reag	160	320
2018	+	Reag	320	80
2018	-	NReag	0	0
2018	+	Reag	160	640

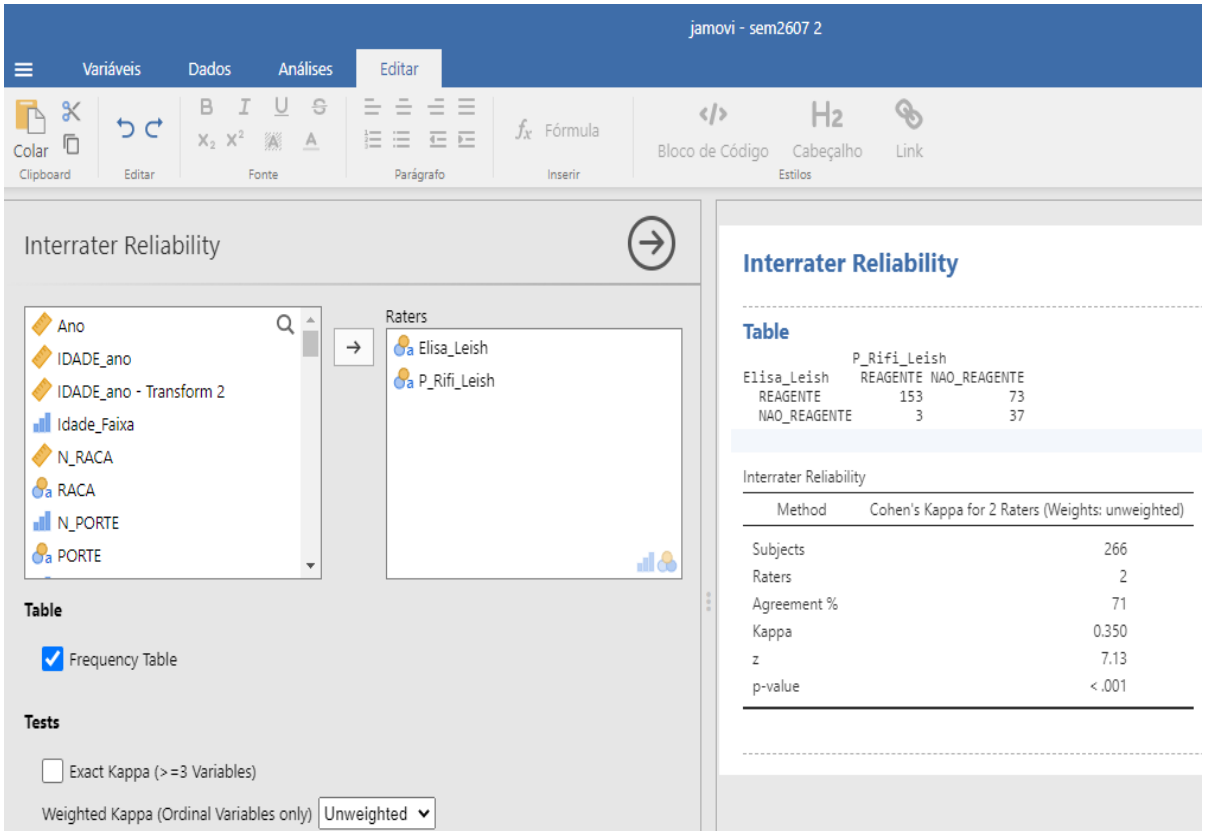
2018	+	Reag	0	0
2018	+	Reag	640	640
2018	-	NReag	0	0
2018	+	Reag	640	640
2018	+	Reag	640	320
2018	+	Reag	640	640
2018	+	Reag	640	40
2018	+	Reag	160	160
2018	+	Reag	320	640
2018	+	Reag	0	80
2018	-	NReag	0	0
2018	+	Reag	320	160
2018	+	Reag	40	80
2018	+	Reag	0	0
2018	+	Reag	160	160
2018	+	Reag	160	80
2018	+	Reag	0	0
2018	+	Reag	0	0
2018	+	Reag	40	40
2018	-	NReag	0	0
2018	+	Reag	40	0
2018	+	Reag	640	160
2018	+	Reag	320	160
2018	+	Reag	640	80
2018	+	Reag	80	80
2018	-	NReag	0	0
2018	-	NReag	0	0
2018	+	Reag	640	160
2018	+	Reag	640	640
2018	+	Reag	320	320
2018	-	NReag	0	0
2018	-	NReag	40	0
2018	+	Reag	80	640
2018	+	Reag	640	640
2018	-	NReag	0	0
2018	+	Reag	640	640
2018	+	Reag	320	320
2018	+	Reag	80	80
2018	+	Reag	160	320
2018	-	NReag	0	0
2018	+	Reag	640	320
2018	+	Reag	40	80
2018	+	Reag	320	640
2018	+	Reag	0	0
2018	+	Reag	0	0
2018	+	Reag	0	0

2018	+	Reag	0	0
2018	+	Reag	320	640
2018	+	Reag	320	320
2018	+	Reag	640	640
2018	+	Reag	160	160
2018	+	Reag	640	320
2018	+	Reag	160	40
2018	+	Reag	160	80
2018	+	Reag	640	320
2018	+	Reag	0	0
2018	+	Reag	640	320
2018	+	Reag	0	0
2018	+	Reag	320	320
2018	+	Reag	40	80
2019	+	Reag	640	160
2019	+	Reag	160	640
2019	+	Reag	320	40
2019	+	Reag	640	640
2019	+	Reag	0	0
2019	+	Reag	640	320
2019	+	Reag	80	0
2019	+	Reag	640	160
2019	+	Reag	640	640
2019	+	Reag	0	0
2019	+	Reag	640	640
2019	+	Reag	0	0
2019	+	Reag	0	80
2019	-	NReag	0	0
2019	+	Reag	320	160
2019	+	Reag	320	0
2019	+	Reag	0	0
2019	+	Reag	320	640
2019	+	Reag	320	160
2019	+	Reag	160	160
2019	+	Reag	160	640
2019	+	Reag	640	160
2019	+	Reag	160	80
2019	-	NReag	0	0
2019	+	Reag	320	320
2019	+	Reag	640	160
2019	+	Reag	0	160
2019	-	NReag	0	0
2019	+	Reag	640	80
2019	+	Reag	40	640
2019	+	Reag	40	0
2019	+	Reag	160	0

2019	-	NReag	0	0
2019	+	Reag	0	640
2019	+	Reag	0	0
2019	+	Reag	0	80
2019	+	Reag	0	320
2019	+	Reag	40	80
2019	-	NReag	0	0
2019	+	Reag	40	80
2019	+	Reag	40	40
2019	+	Reag	80	40
2019	-	NReag	0	0
2019	+	Reag	320	640
2019	+	Reag	640	80
2019	+	Reag	160	80
2019	-	NReag	0	0
2019	+	Reag	0	160
2019	+	Reag	0	40
2019	+	Reag	160	640
2019	+	Reag	640	320
2019	+	Reag	640	160
2019	+	Reag	640	160
2019	+	Reag	0	160
2019	+	Reag	0	40
2019	+	Reag	0	80
2019	+	Reag	320	640
2019	+	Reag	640	640
2020	+	Reag	320	640
2020	+	Reag	320	640
2020	+	Reag	80	160
2020	+	Reag	640	640
2020	+	Reag	640	160
2020	+	Reag	640	640
2020	+	Reag	640	320
2020	+	Reag	640	640
2020	+	Reag	640	640
2020	+	Reag	640	640
2020	-	NReag	0	0
2020	+	Reag	0	0
2020	+	Reag	640	640
2020	+	Reag	80	0

ANEXO B – RESULTADOS DA ANÁLISE ESTATÍSTICA

TABELA 2 – Tabela de Concordância dos resultados expressos e comparados entre ELISA e RIFI para *Leishmania spp., sendo o* total 1 e 2 referentes aos resultados obtidos no teste ELISA e RIFI, respectivamente.



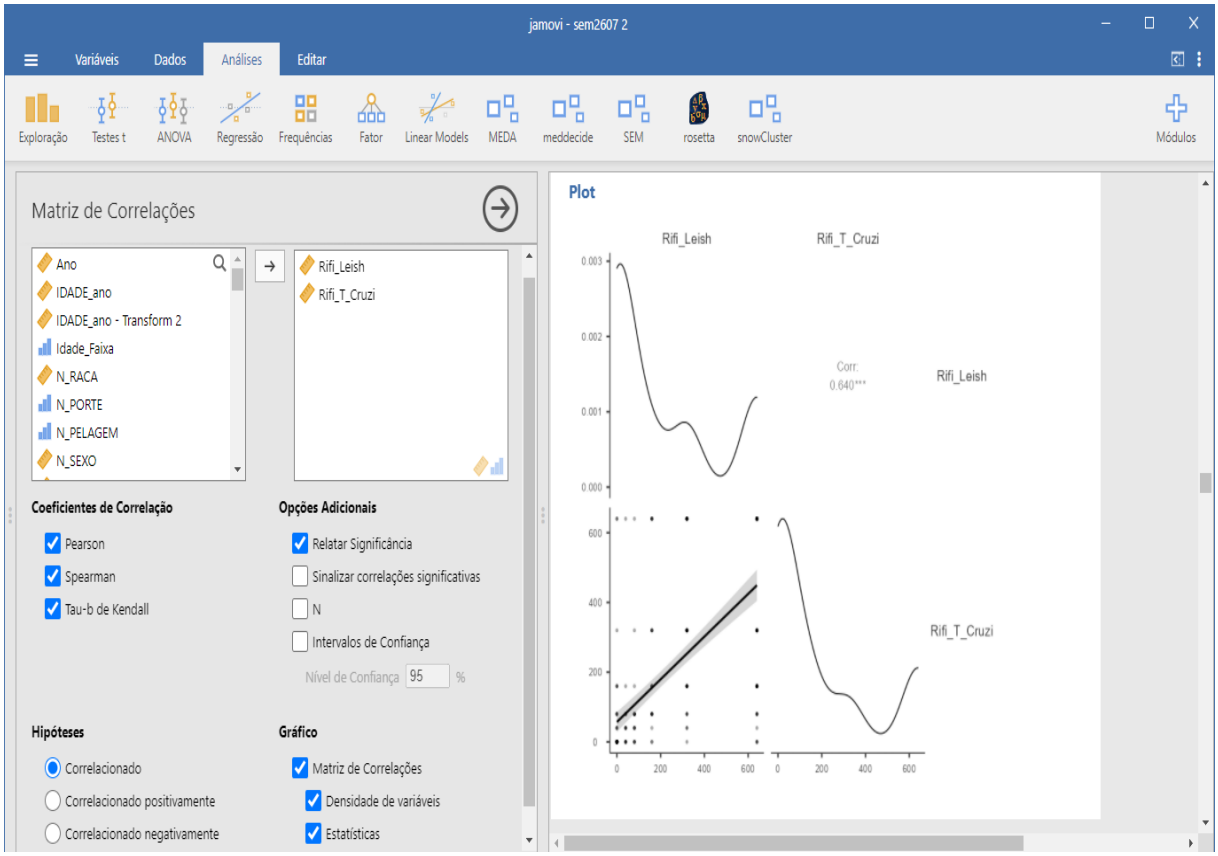
4.2 Reações cruzadas para anticorpo anti-*Leishmania spp.* e anti-*Trypanosoma cruzi* pela de Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)

Table

	P_RIFI_T_Cruzi	
P_RIFI_Leish	REAGENTE	NAO_REAGENTE
REAGENTE	141	15
NAO_REAGENTE	15	95

Interrater Reliability

Method	Cohen's Kappa for 2 Raters (Weights: unweighted)
Subjects	266
Raters	2
Agreement %	89
Kappa	0.767
z	12.5
p-value	< .001

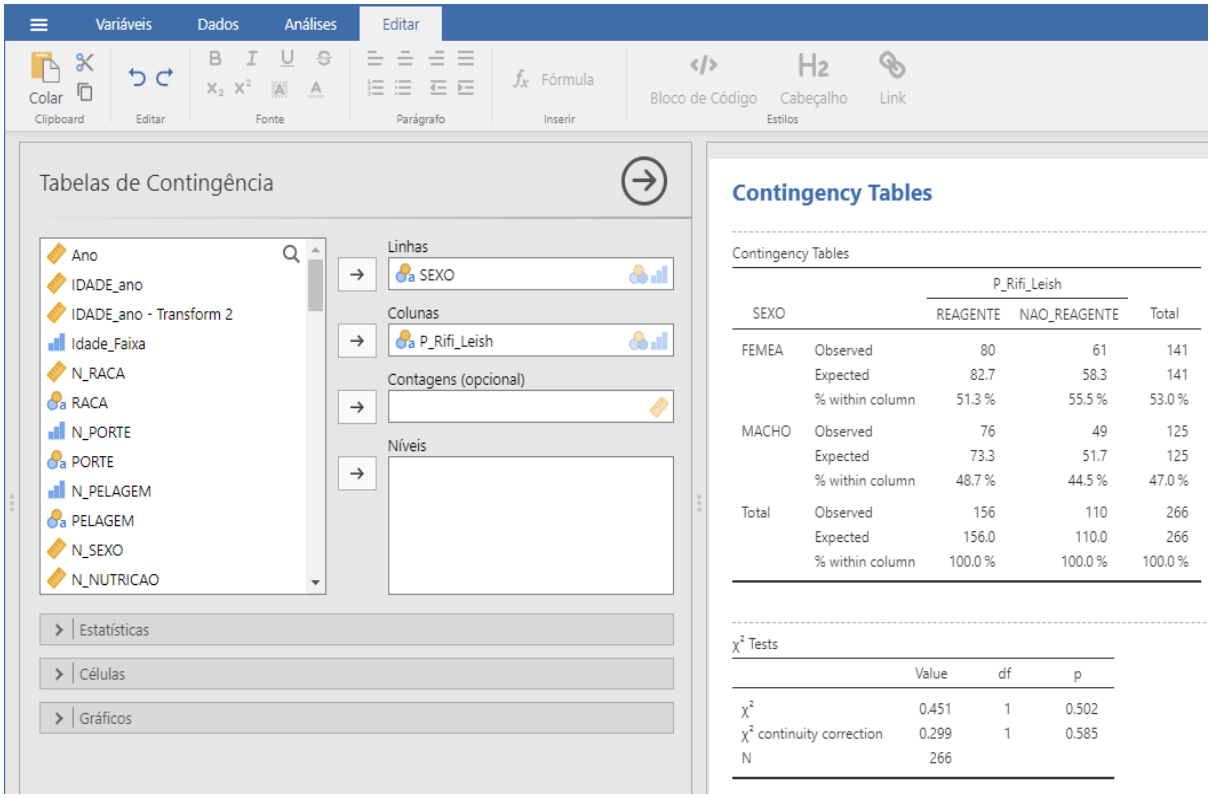


Correlation Matrix

		RIFI_Leish	RIFI_T_Cruzi
RIFI_Leish	Spearman's rho	—	
	p-value	—	
	N	—	
RIFI_T_Cruzi	Spearman's rho	0.782 ***	—
	p-value	< .001	—
	N	266	—

Nota. * p < .05, ** p < .01, *** p < .001

TABELA 3 – Resultado da associação a variável sexo e a presença de anticorpos *anti-Leishmania spp* e *anti-T. cruzi.*



Contingency Tables

Contingency Tables

SEXO		P_RIFI_Leish REAGENTE	P_RIFI_Leish NAO_REAGENTE	Total
FEMEA	Observed	80	61	141
	Expected	82.7	58.3	141
	% within column	51.3 %	55.5 %	53.0 %
MACHO	Observed	76	49	125
	Expected	73.3	51.7	125
	% within column	48.7 %	44.5 %	47.0 %
Total	Observed	156	110	266
	Expected	156.0	110.0	266
	% within column	100.0 %	100.0 %	100.0 %

Contingency Tables

SEXO	P_RIFI_Leish		Total
	REAGENTE	NAO_REAGENTE	

χ^2 Tests

	Value	df	p
χ^2	0.451	1	0.502
χ^2 continuity correction	0.299	1	0.585
N	266		

Plots

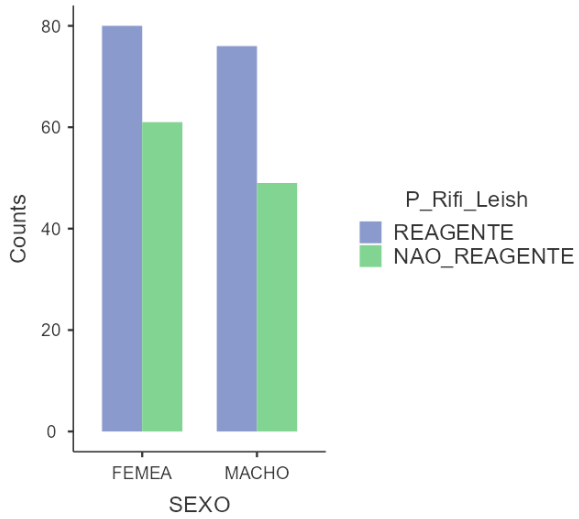
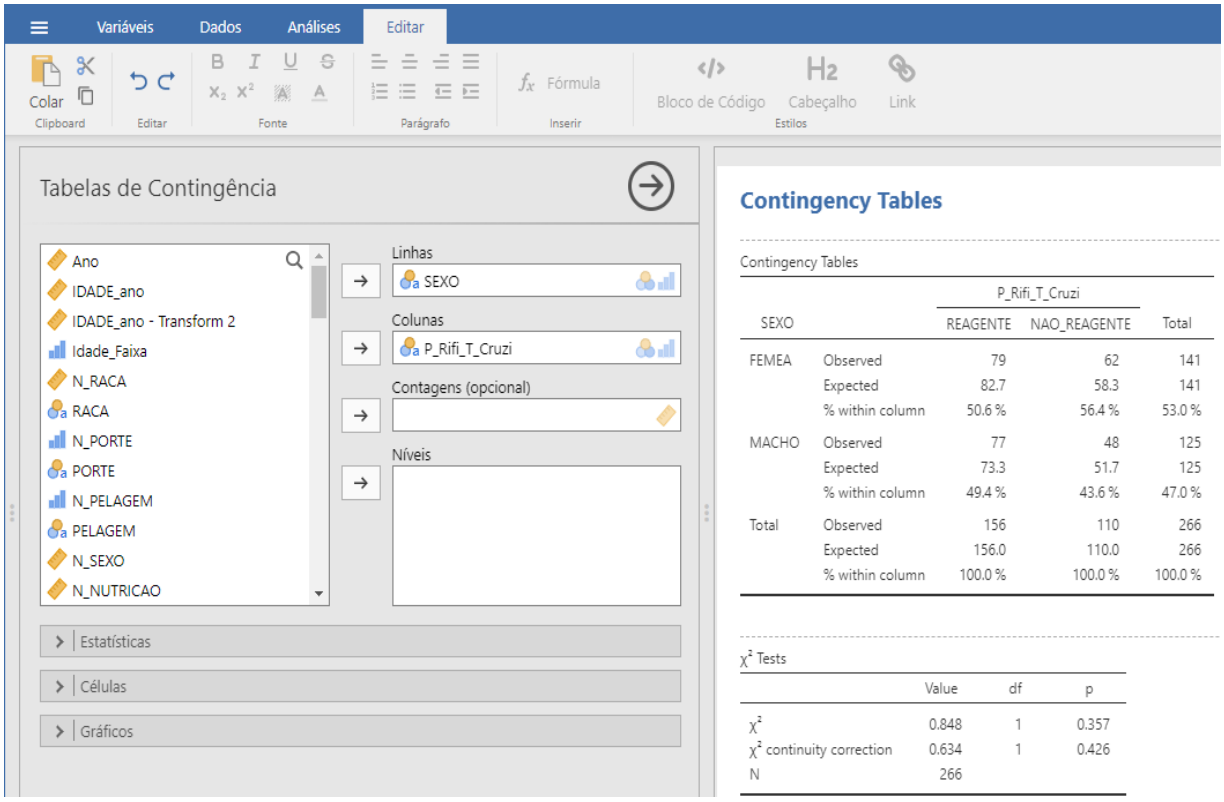


TABELA 3 – Resultado da associação a variável sexo e a presença de anticorpos *anti-Leishmania spp* e *anti-T. cruzi.*



Contingency Tables

Contingency Tables

SEXO		P_RIFI_T_Cruzi REAGENTE	NAO_REAGENTE	Total
FEMEA	Observed	79	62	141
	Expected	82.7	58.3	141
	% within column	50.6 %	56.4 %	53.0 %
MACHO	Observed	77	48	125
	Expected	73.3	51.7	125
	% within column	49.4 %	43.6 %	47.0 %
Total	Observed	156	110	266
	Expected	156.0	110.0	266
	% within column	100.0 %	100.0 %	100.0 %

Contingency Tables

SEXO	P_RIFI_T_Cruzi		Total
	REAGENTE	NAO_REAGENTE	

χ^2 Tests

	Value	df	p
χ^2	0.848	1	0.357
χ^2 continuity correction	0.634	1	0.426
N	266		

Plots

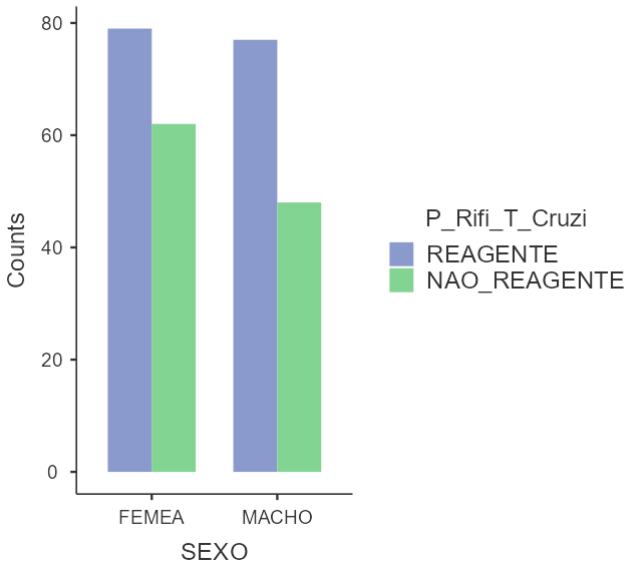
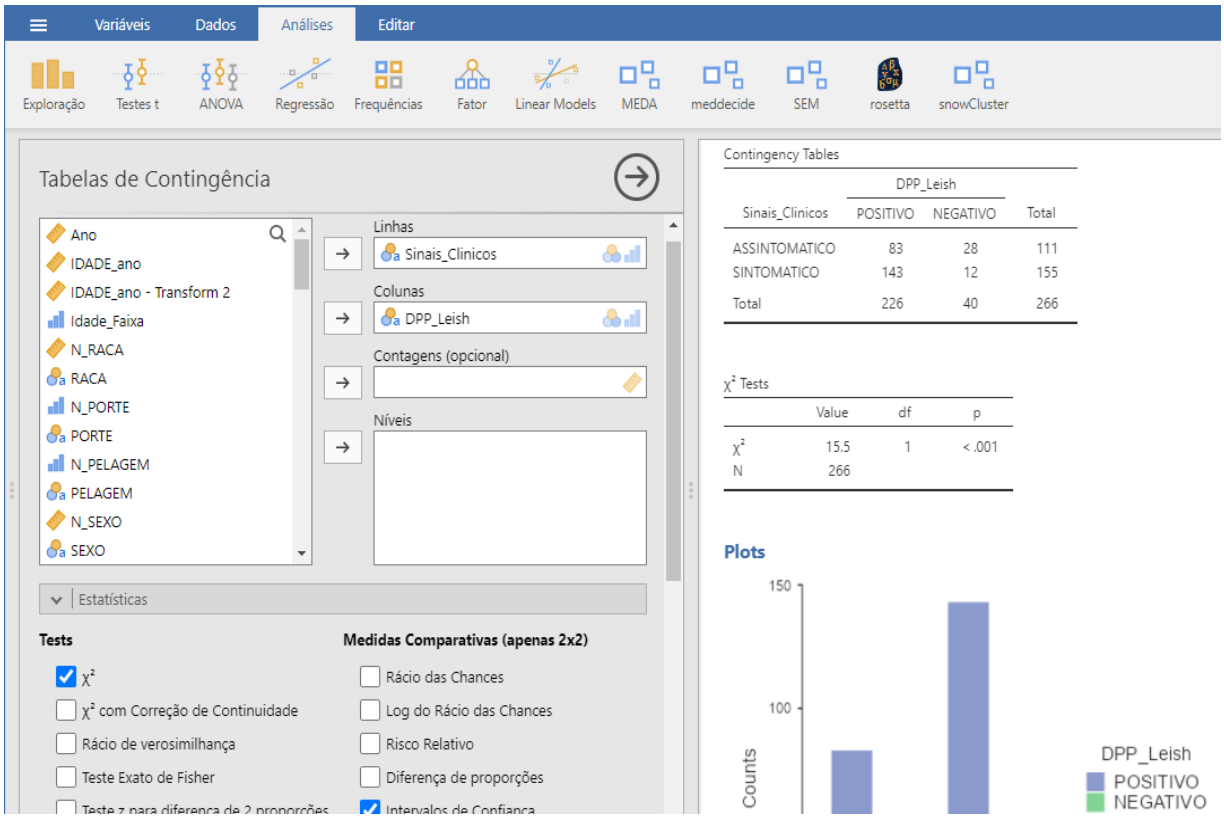


TABELA 5 – Associação entre as variáveis sinais clínicos e DPP+Elisa – *Leishmania* spp.



Contingency Tables

Contingency Tables

	DPP_Leish		
Sinais_Clinicos	**POSITIVO**	**NEGATIVO**	**Total**
ASSINTOMATICO	83	28	111
SINTOMATICO	143	12	155
Total	226	40	266

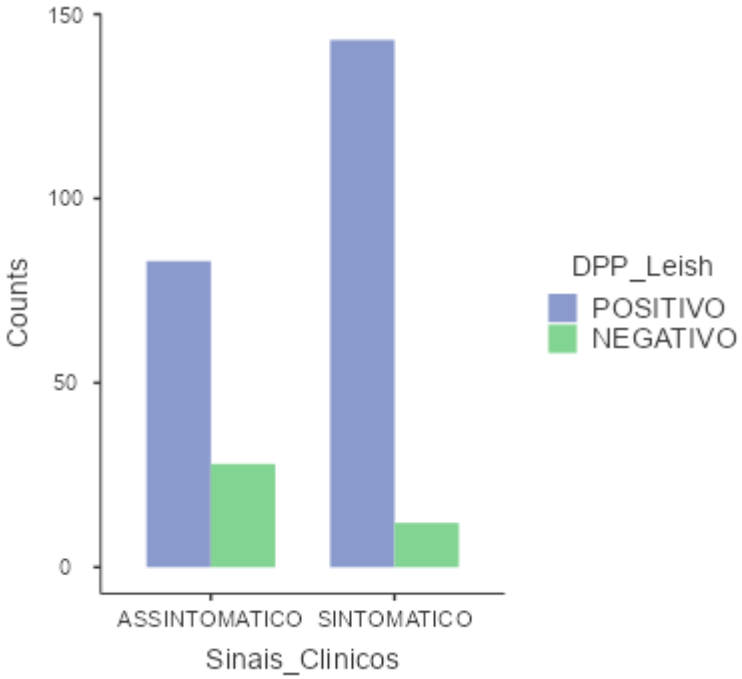
χ^2 Tests

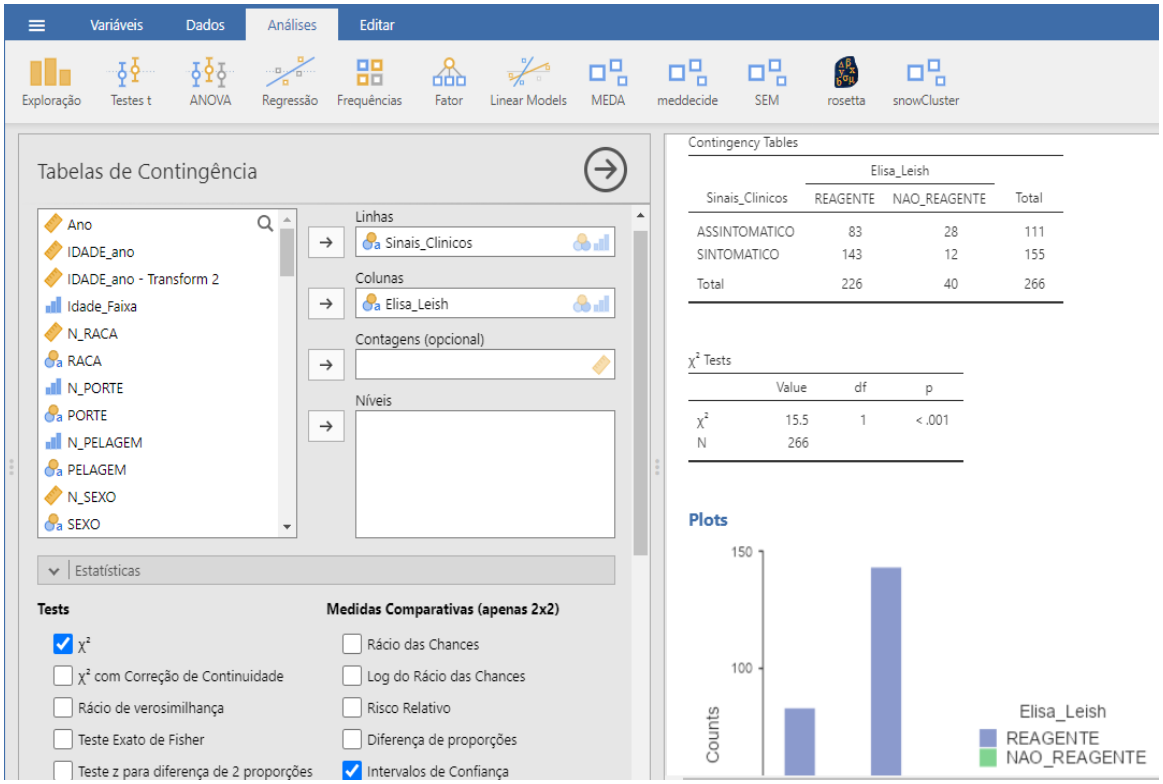
	Value	**df**	**p**

χ^2 Tests

	Value	df	p
χ^2	15.5	1	< .001
N	266		

Plots





Contingency Tables

Contingency Tables

	Elisa_Leish		
Sinais_Clinicos	**REAGENTE**	**NAO_REAGENTE**	**Total**
ASSINTOMATICO	83	28	111
SINTOMATICO	143	12	155
Total	226	40	266

χ^2 Tests

	Value	**df**	**p**
χ^2	15.5	1	< .001
N	266		

Plots

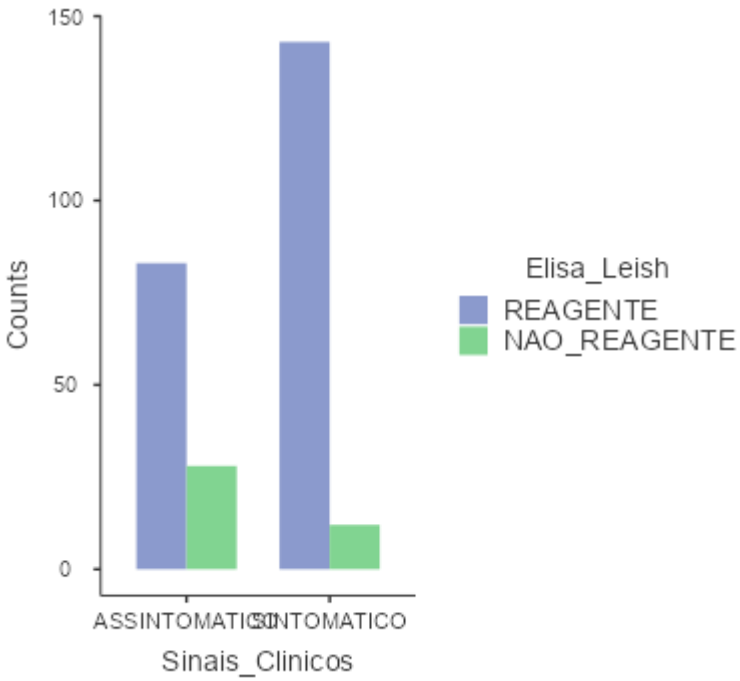
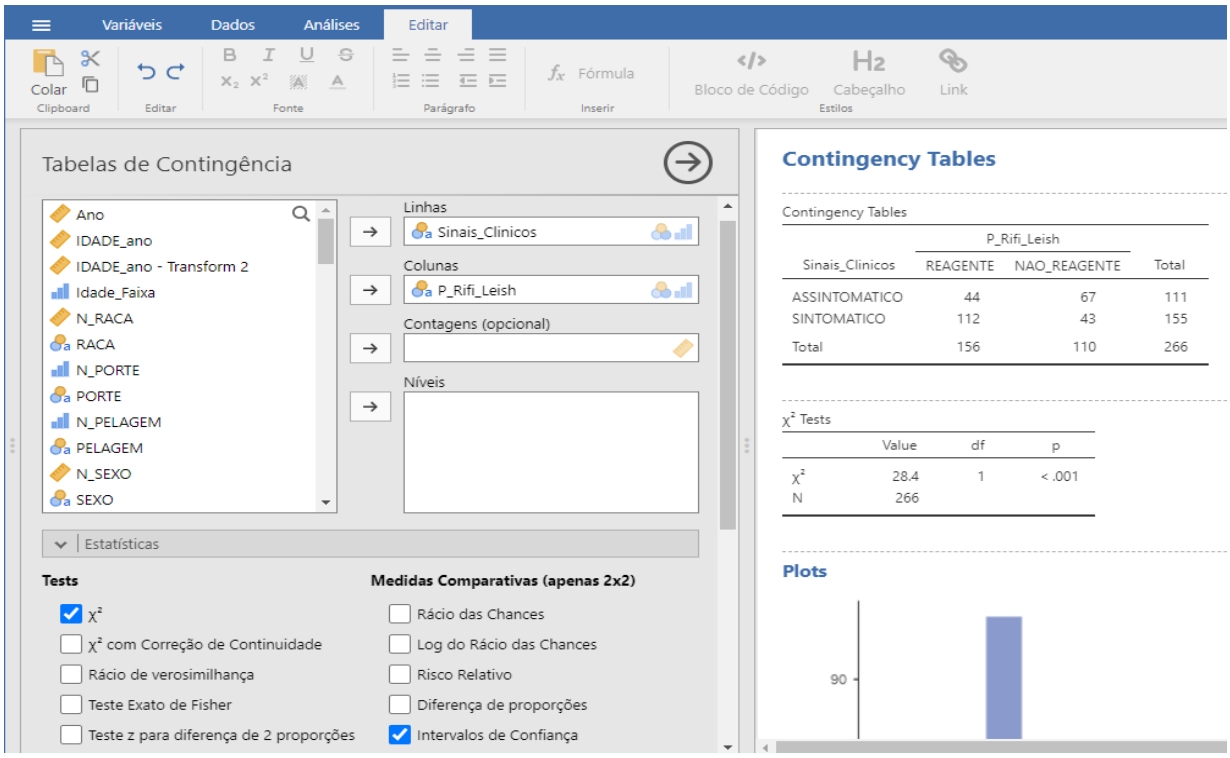


TABELA 6 – Associação entre as variáveis sinais clínicos e RIFI – *Leishmania* spp.



Contingency Tables

Contingency Tables

	P_RIFI_Leish		
Sinais_Clinicos	**REAGENTE**	**NAO_REAGENTE**	**Total**
ASSINTOMATICO	44	67	111
SINTOMATICO	112	43	155
Total	156	110	266

χ^2 Tests

	Value	**df**	**p**
χ^2	28.4	1	< .001
N	266		

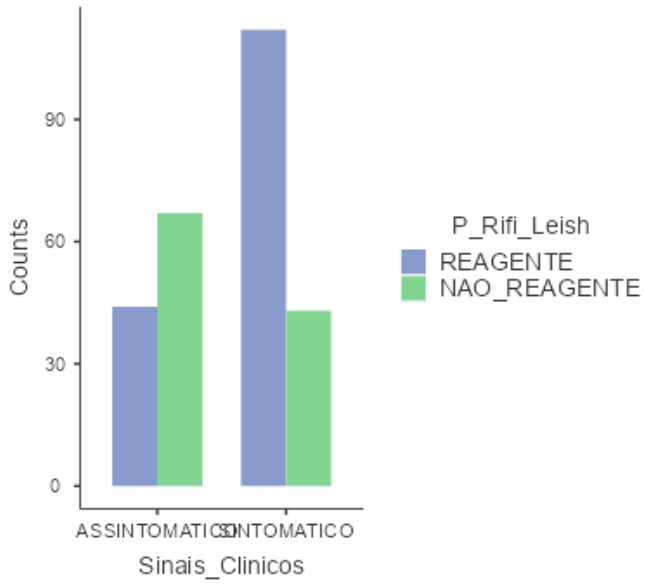
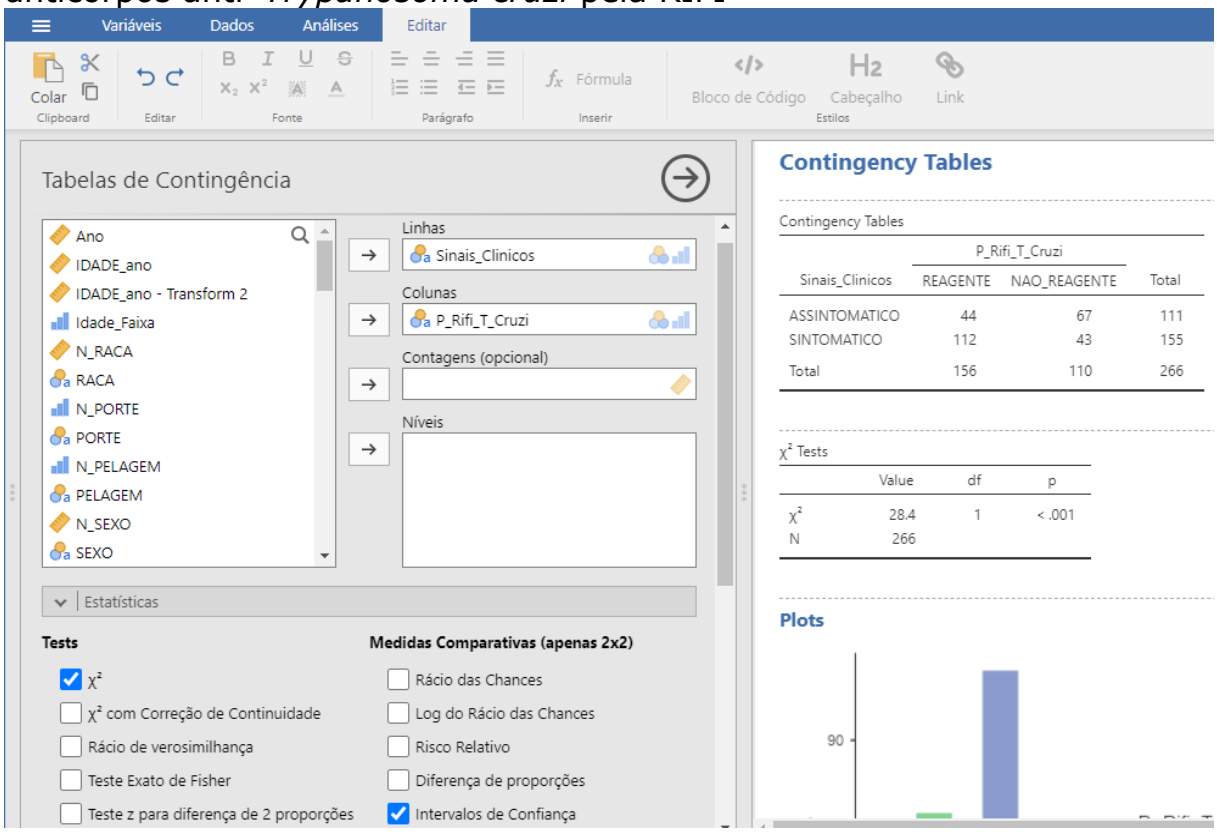


TABELA 8 – Associação entre as variáveis sinais clínicos e presença de anticorpos anti–*Trypanosoma cruzi* pela RIFI



Contingency Tables

Contingency Tables

	P_RIFI_T_Cruzi		
Sinais_Clinicos	**REAGENTE**	**NAO_REAGENTE**	**Total**
ASSINTOMATICO	44	67	111
SINTOMATICO	112	43	155
Total	156	110	266

χ^2 Tests

	Value	df	p
χ^2	28.4	1	< .001

χ^2 Tests

	Value	df	p
N	266		

Plots

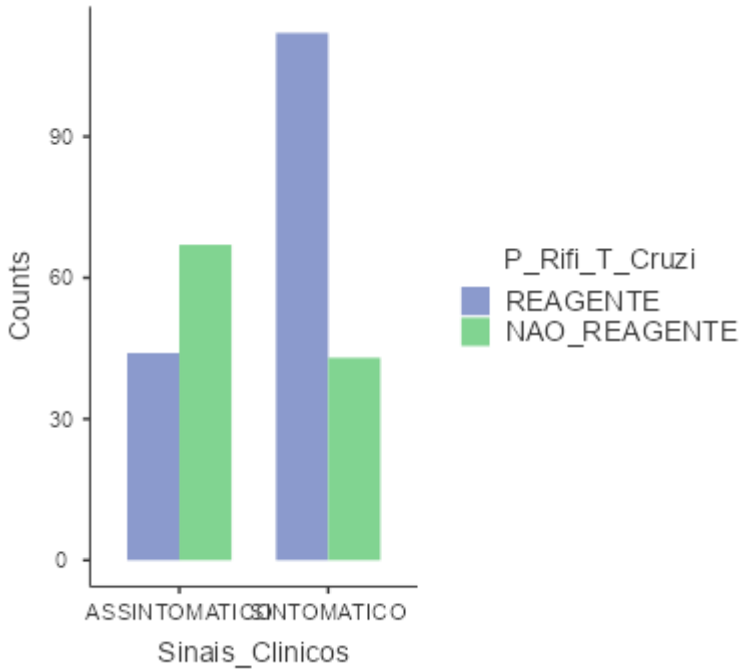
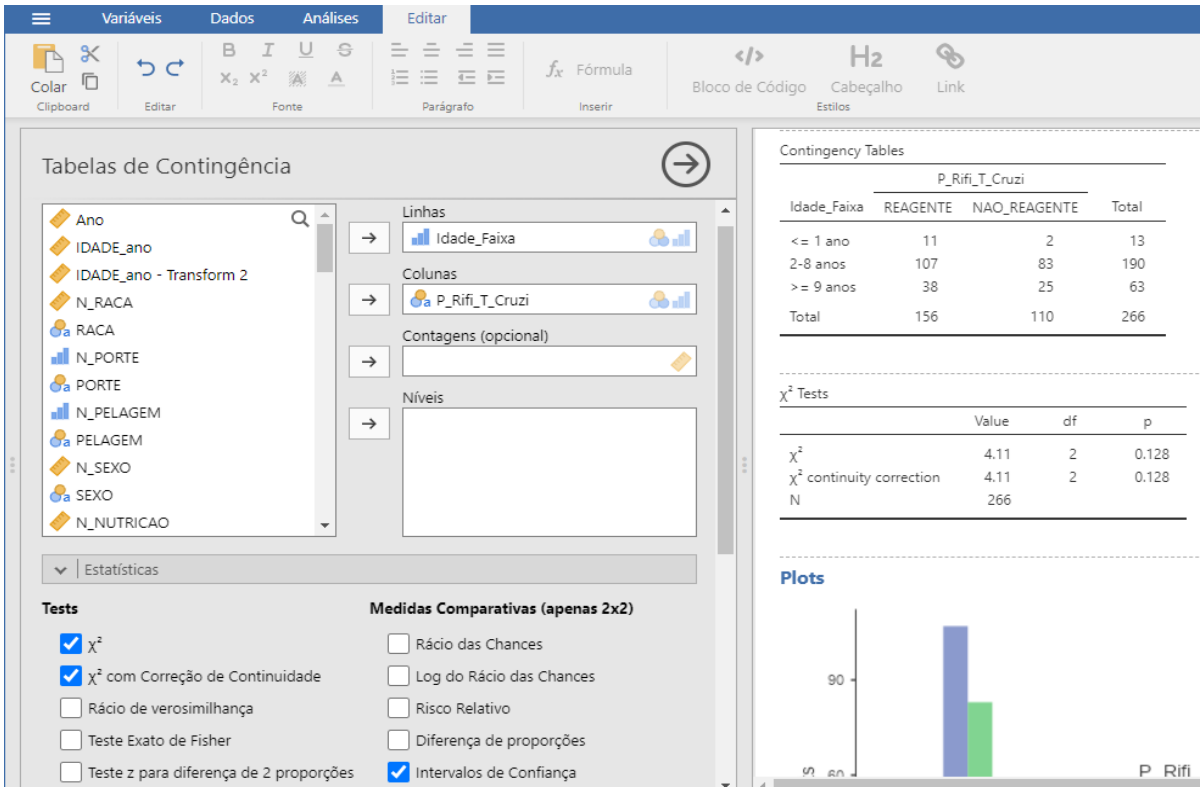


TABELA 9 – Distribuição e efeito o entre a faixa etária e a presença de anticorpos *anti- Leishmania* spp e *T. cruzi* de amostras de cães da região noroeste do estado de São Paulo, período de 2017-2020)



Contingency Tables

Contingency Tables

	P_RIFI_T_Cruzi		
Idade_Faixa	**REAGENTE**	**NAO_REAGENTE**	**Total**
<= 1 ano	11	2	13
2-8 anos	107	83	190
>= 9 anos	38	25	63
Total	156	110	266

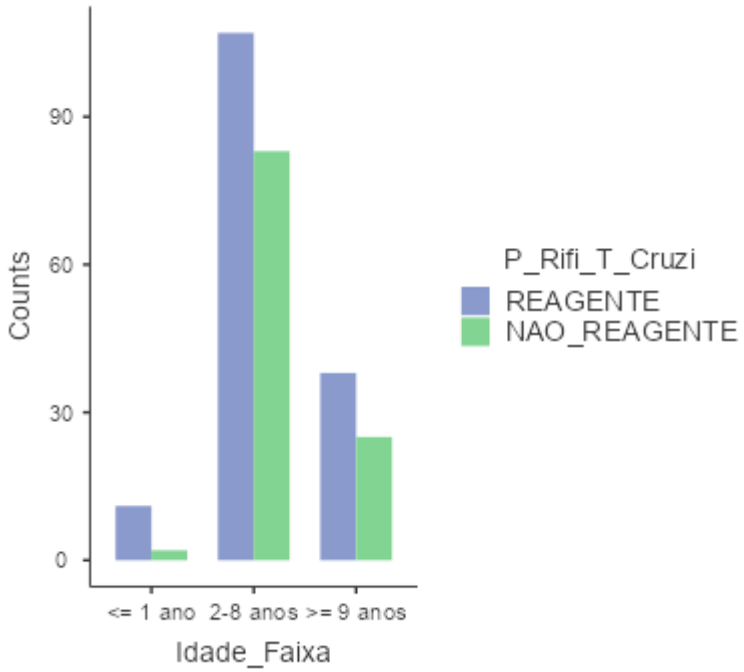
χ^2 Tests

	Value	**df**	**p**

χ^2 Tests

	Value	df	p
χ^2	4.11	2	0.128
χ^2 continuity correction	4.11	2	0.128
N	266		

Plots



Independent Samples T-Test

Independent Samples T-Test

		Statistic	p		Effect Size
Idade_Faixa	Mann-Whitney U	7726	0.080	Rank biserial correlation	0.0995

Group Descriptives

	Group	N	Mean	Median	SD	SE
Idade_Faixa	REAGENTE	156	2.23	2.00	0.531	0.0425
	NAO_REAGENTE	110	2.13	2.00	0.451	0.0430

ANEXO C - MODELO DE EQUAÇÃO ESTRUTURAL (SEM)

Structural Equation Modelling

semlj : : semljsyn(Reaçao_cruzada=~RIFI_Leish+RIFI_T_Cruzi
Reaçao_cruzada~IDADE_ano+N_SEXO+N_PORTE+N_PELAGEM+N_Sinais_Clinicos+N_Acesso_rua+N_M_cimento+N_M_terra+N_Local_Bairro+N_Area_Verde+N_DPP_Leish+N_Elisa_Leish)

Models Info

Estimation Method	DWLS .
Optimization Method	NLMINB
Number of observations	172
Free parameters	108
Standard erros	Robust
Scaled test	Mean and variance adjusted
Converged	TRUE
Iterations	66
Model	Reaçao_cruzada=~RIFI_Leish+RIFI_T_Cruzi Reaçao_cruzada~IDADE_ano+N_SEXO+N_PORTE+N_PELAGEM+N_Sinais_Clinicos+N_Acesso_rua+N_M_cimento+N_M_terra+N_Local_Bairro+N_Area_Verde+N_DPP_Leish+N_Elisa_Leish

Nota. lavaan WARNING: The variance-covariance matrix of the estimated parameters (vcov) does not appear to be positive definite! The smallest eigenvalue (= -3.691952e-15) is smaller than zero. This may be a symptom that the model is not identified.

Nota. Factors scores (latent predicted values) saved in the dataset. Varnames: PRFS_Reaçao_cruzada

Overall Tests

Model tests

Label	X^2	df	p
User Model	3.08	11	0.990
Baseline Model	180.92	25	< .001
Scaled User	4.51	6	0.616
Scaled Baseline	95.40	13	< .001

Fit índices

			95% Confidence Intervals		
Type	SRMR	RMSEA	Lower	Upper	RMSEA p
Classical	0.012	0.000	0.000	0.000	0.998
Robust	0.012		0.000		
Scaled	0.012	0.000	0.000	0.099	0.741

User model versus baseline model

	Model
Comparative Fit Index (CFI)	1.000
Tucker-Lewis Index (TLI)	1.115
Bentler-Bonett Non-normed Fit Index (NNFI)	1.115
Bentler-Bonett Normed Fit Index (NFI)	0.983
Parsimony Normed Fit Index (PNFI)	0.433
Bollen's Relative Fit Index (RFI)	0.961
Bollen's Incremental Fit Index (IFI)	1.047
Relative Noncentrality Index (RNI)	1.051

Estimates

Parameters estimates

Dep	Pred	Estimate	SE	95% Confidence Intervals		β	z	p
				Lower	Upper			
Reaçao_cruzada	IDADE_ano	-0.15547	0.0910	-0.3338	0.0228	-0.13174	-1.7088	0.087
Reaçao_cruzada	N_SEXO	-0.01857	0.0961	-0.2069	0.1697	-0.01573	-0.1933	0.847
Reaçao_cruzada	N_PORTE	0.03673	0.0757	-0.1116	0.1851	0.03112	0.4854	0.627
Reaçao_cruzada	N_PELAGEM	0.02239	0.1001	-0.1738	0.2185	0.01897	0.2237	0.823
Reaçao_cruzada	N_Sinais_Clinicos	0.38190	0.1063	0.1735	0.5903	0.32359	3.5912	< .001
Reaçao_cruzada	N_Acesso_rua	0.01052	0.1010	-0.1874	0.2084	0.00892	0.1042	0.917
Reaçao_cruzada	N_M_cimento	0.13717	0.2727	-0.3974	0.6717	0.11623	0.5030	0.615
Reaçao_cruzada	N_M_terra	-0.19687	0.2617	-0.7098	0.3160	-0.16681	-0.7523	0.452
Reaçao_cruzada	N_Local_Bairro	-0.19992	0.0942	-0.3846	-0.0152	-0.16939	-2.1217	0.034

Parameters estimates

Dep	Pred	Estimate	SE	95% Confidence Intervals		β	z	p
				Lower	Upper			
Reaçao_cruzada	N_Area_Verde	0.02187	0.0956	-0.1655	0.2093	0.01853	0.2287	0.819
Reaçao_cruzada	N_DPP_Leish	-0.00336	0.0430	-0.0876	0.0809	-0.00285	-0.0782	0.938
Reaçao_cruzada	N_Elisa_Leish	0.30381	0.0568	0.1925	0.4151	0.25743	5.3488	< .001

Measurement model

Latent	Observed	Estimate	SE	95% Confidence Intervals		β	z	p
				Lower	Upper			
Reaçao_cruzada	RIFI_Leish	0.649	0.0531	0.545	0.753	0.766	12.2	< .001
	RIFI_T_Cruzi	0.684	0.0589	0.569	0.799	0.807	11.6	< .001

Variances and Covariances

				95% Confidence Intervals				

Variable 1	Variable 2	Estimate	SE	Lower	Upper	β	z	p
RIFI_Leish	RIFI_Leish	0.41294	0.08195	0.25232	0.57357	0.41294	5.0388	< .001
RIFI_T_Cruzi	RIFI_T_Cruzi	0.34839	0.08393	0.18389	0.51290	0.34839	4.1508	< .001
Reaçao_cruzada	Reaçao_cruzada	1.00000	0.00000	1.00000	1.00000	0.71795		
IDADE_ano	IDADE_ano	1.00000	0.11198	0.78053	1.21947	1.00000	8.9303	< .001
IDADE_ano	N_SEXO	-0.10093	0.07578	-0.24946	0.04759	-0.10093	-1.3319	0.183
IDADE_ano	N_PORTE	0.07623	0.07791	-0.07646	0.22893	0.07623	0.9785	0.328
IDADE_ano	N_PELAGEM	-0.02427	0.07630	-0.17381	0.12527	-0.02427	-0.3181	0.750
IDADE_ano	N_Sinais_Clinicos	-0.02221	0.07840	-0.17587	0.13146	-0.02221	-0.2832	0.777
IDADE_ano	N_Acesso_rua	-0.06195	0.07918	-0.21713	0.09324	-0.06195	-0.7823	0.434
IDADE_ano	N_M_cimento	-0.16740	0.07309	-0.31067	-0.02414	-0.16740	-2.2902	0.022
IDADE_ano	N_M_terra	-0.13656	0.07291	-0.27945	0.00633	-0.13656	-1.8731	0.061
IDADE_ano	N_Local_Bairro	0.03580	0.08044	-0.12186	0.19347	0.03580	0.4451	0.656
IDADE_ano	N_Area_Verde	-0.03621	0.07595	-0.18506	0.11264	-0.03621	-0.4768	0.634

Variances and Covariances

Variable 1	Variable 2	Estimate	SE	95% Confidence Intervals		β	z	p
				Lower	Upper			
IDADE_ano	N_DPP_Leish	0.00673	0.04242	-0.07642	0.08988	0.00673	0.1586	0.874
IDADE_ano	N_Elisa_Leish	-0.06227	0.08367	-0.22627	0.10172	-0.06227	-0.7442	0.457
N_SEXO	N_SEXO	1.00000	0.00177	0.99653	1.00347	1.00000	565.5480	< .001
N_SEXO	N_PORTE	-0.09639	0.07535	-0.24407	0.05129	-0.09639	-1.2792	0.201
N_SEXO	N_PELAGEM	0.04899	0.07592	-0.09982	0.19779	0.04899	0.6452	0.519
N_SEXO	N_Sinais_Clinicos	-0.02648	0.07599	-0.17542	0.12246	-0.02648	-0.3485	0.727
N_SEXO	N_Acesso_rua	-0.01974	0.07599	-0.16868	0.12920	-0.01974	-0.2598	0.795
N_SEXO	N_M_cimento	-0.01038	0.07603	-0.15939	0.13863	-0.01038	-0.1366	0.891
N_SEXO	N_M_terra	0.03730	0.07596	-0.11159	0.18618	0.03730	0.4910	0.623
N_SEXO	N_Local_Bairro	0.04138	0.07598	-0.10753	0.19029	0.04138	0.5447	0.586
N_SEXO	N_Area_Verde	-0.05866	0.07594	-0.20751	0.09019	-0.05866	-0.7724	0.440

Variances and Covariances

Variable 1	Variable 2	Estimate	SE	95% Confidence Intervals		β	z	p
				Lower	Upper			
N_SEXO	N_DPP_Leish	0.00126	0.07604	-0.14777	0.15029	0.00126	0.0166	0.987
N_SEXO	N_Elisa_Leish	-0.19645	0.07405	-0.34158	-0.05132	-0.19645	-2.6530	0.008
N_PORTE	N_PORTE	1.00000	0.28711	0.43727	1.56273	1.00000	3.4830	< .001
N_PORTE	N_PELAGEM	0.21466	0.06396	0.08930	0.34001	0.21466	3.3562	< .001
N_PORTE	N_Sinais_Clinicos	0.05578	0.07949	-0.10002	0.21159	0.05578	0.7017	0.483
N_PORTE	N_Acesso_rua	0.19677	0.10169	-0.00254	0.39608	0.19677	1.9350	0.053
N_PORTE	N_M_cimento	0.07178	0.07338	-0.07205	0.21561	0.07178	0.9782	0.328
N_PORTE	N_M_terra	0.06052	0.07299	-0.08254	0.20357	0.06052	0.8291	0.407
N_PORTE	N_Local_Bairro	0.04027	0.07201	-0.10086	0.18140	0.04027	0.5592	0.576
N_PORTE	N_Area_Verde	0.10460	0.06015	-0.01329	0.22249	0.10460	1.7390	0.082
N_PORTE	N_DPP_Leish	-0.02686	0.02035	-0.06674	0.01303	-0.02686	-1.3198	0.187

Variances and Covariances

Variable 1	Variable 2	Estimate	SE	95% Confidence Intervals		β	z	p
				Lower	Upper			
N_PORTE	N_Elisa_Leish	0.09131	0.10645	-0.11732	0.29994	0.09131	0.8578	0.391
N_PELAGEM	N_PELAGEM	1.00000	0.02325	0.95443	1.04557	1.00000	43.0061	< .001
N_PELAGEM	N_Sinais_Clinicos	-0.15846	0.07591	-0.30725	-0.00968	-0.15846	-2.0874	0.037
N_PELAGEM	N_Acesso_rua	0.07213	0.07490	-0.07467	0.21893	0.07213	0.9630	0.336
N_PELAGEM	N_M_cimento	0.13586	0.07569	-0.01249	0.28421	0.13586	1.7949	0.073
N_PELAGEM	N_M_terra	0.10569	0.07600	-0.04327	0.25465	0.10569	1.3906	0.164
N_PELAGEM	N_Local_Bairro	-0.01891	0.07823	-0.17225	0.13442	-0.01891	-0.2417	0.809
N_PELAGEM	N_Area_Verde	-0.03169	0.07564	-0.17995	0.11657	-0.03169	-0.4190	0.675
N_PELAGEM	N_DPP_Leish	-0.01665	0.07780	-0.16914	0.13584	-0.01665	-0.2140	0.831
N_PELAGEM	N_Elisa_Leish	-0.04916	0.07756	-0.20118	0.10286	-0.04916	-0.6338	0.526
N_Sinais_Clinicos	N_Sinais_Clinicos	1.00000	0.03444	0.93249	1.06751	1.00000	29.0321	< .001

Variances and Covariances

Variable 1	Variable 2	Estimate	SE	95% Confidence Intervals		β	z	p
				Lower	Upper			
N_Sinais_Clinicos	N_Acesso_rua	0.05086	0.07690	-0.09987	0.20159	0.05086	0.6614	0.508
N_Sinais_Clinicos	N_M_cimento	0.01447	0.07596	-0.13441	0.16335	0.01447	0.1905	0.849
N_Sinais_Clinicos	N_M_terra	0.02529	0.07586	-0.12340	0.17397	0.02529	0.3333	0.739
N_Sinais_Clinicos	N_Local_Bairro	0.02979	0.07678	-0.12070	0.18028	0.02979	0.3880	0.698
N_Sinais_Clinicos	N_Area_Verde	0.03877	0.07535	-0.10891	0.18646	0.03877	0.5146	0.607
N_Sinais_Clinicos	N_DPP_Leish	0.13578	0.09441	-0.04926	0.32082	0.13578	1.4382	0.150
N_Sinais_Clinicos	N_Elisa_Leish	0.31882	0.08679	0.14872	0.48893	0.31882	3.6736	< .001
N_Acesso_rua	N_Acesso_rua	1.00000	0.08510	0.83321	1.16679	1.00000	11.7512	< .001
N_Acesso_rua	N_M_cimento	0.30672	0.06908	0.17134	0.44211	0.30672	4.4403	< .001
N_Acesso_rua	N_M_terra	0.28112	0.06872	0.14642	0.41581	0.28112	4.0905	< .001
N_Acesso_rua	N_Local_Bairro	0.04546	0.07649	-0.10445	0.19537	0.04546	0.5943	0.552

Variances and Covariances

Variable 1	Variable 2	Estimate	SE	95% Confidence Intervals		β	z	p
				Lower	Upper			
N_Acesso_rua	N_Area_Verde	0.11123	0.07103	-0.02798	0.25045	0.11123	1.5660	0.117
N_Acesso_rua	N_DPP_Leish	-0.06346	0.04472	-0.15111	0.02419	-0.06346	-1.4190	0.156
N_Acesso_rua	N_Elisa_Leish	0.04151	0.08079	-0.11682	0.19985	0.04151	0.5139	0.607
N_M_cimento	N_M_cimento	1.00000	0.01780	0.96511	1.03489	1.00000	56.1729	< .001
N_M_cimento	N_M_terra	0.92997	0.03459	0.86217	0.99777	0.92997	26.8827	< .001
N_M_cimento	N_Local_Bairro	-0.10081	0.07537	-0.24854	0.04692	-0.10081	-1.3374	0.181
N_M_cimento	N_Area_Verde	0.07499	0.07643	-0.07481	0.22479	0.07499	0.9811	0.327
N_M_cimento	N_DPP_Leish	-0.12193	0.08486	-0.28824	0.04438	-0.12193	-1.4369	0.151
N_M_cimento	N_Elisa_Leish	0.04317	0.07486	-0.10355	0.18989	0.04317	0.5767	0.564
N_M_terra	N_M_terra	1.00000	0.02509	0.95083	1.04917	1.00000	39.8593	< .001
N_M_terra	N_Local_Bairro	-0.11572	0.07529	-0.26328	0.03185	-0.11572	-1.5369	0.124

Variances and Covariances

Variable 1	Variable 2	Estimate	SE	95% Confidence Intervals		β	z	p
				Lower	Upper			
N_M_terra	N_Area_Verde	0.02785	0.07633	-0.12175	0.17744	0.02785	0.3648	0.715
N_M_terra	N_DPP_Leish	-0.01794	0.07807	-0.17096	0.13507	-0.01794	-0.2298	0.818
N_M_terra	N_Elisa_Leish	0.02833	0.07499	-0.11865	0.17530	0.02833	0.3777	0.706
N_Local_Bairro	N_Local_Bairro	1.00000	0.07289	0.85713	1.14287	1.00000	13.7188	< .001
N_Local_Bairro	N_Area_Verde	-0.19915	0.07312	-0.34246	-0.05585	-0.19915	-2.7238	0.006
N_Local_Bairro	N_DPP_Leish	-0.08330	0.05828	-0.19753	0.03093	-0.08330	-1.4292	0.153
N_Local_Bairro	N_Elisa_Leish	-0.02252	0.08407	-0.18730	0.14226	-0.02252	-0.2678	0.789
N_Area_Verde	N_Area_Verde	1.00000	0.07009	0.86263	1.13737	1.00000	14.2680	< .001
N_Area_Verde	N_DPP_Leish	-0.05000	0.09051	-0.22740	0.12741	-0.05000	-0.5523	0.581
N_Area_Verde	N_Elisa_Leish	-0.01538	0.07751	-0.16730	0.13655	-0.01538	-0.1984	0.843
N_DPP_Leish	N_DPP_Leish	1.00000	0.69269	-0.35765	2.35765	1.00000	1.4436	0.149

Variances and Covariances

Variable 1	Variable 2	Estimate	SE	95% Confidence Intervals		β	z	p
				Lower	Upper			
N_DPP_Leish	N_Elisa_Leish	0.33868	0.23473	-0.12138	0.79875	0.33868	1.4429	0.149
N_Elisa_Leish	N_Elisa_Leish	1.00000	0.21305	0.58244	1.41756	1.00000	4.6938	< .001

Intercepts

Variable	Intercept	SE	95% Confidence Intervals		z	p
			Lower	Upper		
RIFI_Leish	0.000	0.070	-0.136	0.136	0.000	1.000
RIFI_T_Cruzi	0.000	0.069	-0.135	0.135	0.000	1.000
IDADE_ano	0.000	0.076	-0.149	0.149	0.000	1.000
N_SEXO	-0.000	0.076	-0.149	0.149	-0.000	1.000
N_PORTE	-0.000	0.076	-0.149	0.149	-0.000	1.000
N_PELAGEM	-0.000	0.076	-0.149	0.149	-0.000	1.000
N_Sinais_Clinicos	0.000	0.076	-0.149	0.149	0.000	1.000
N_Acesso_rua	-0.000	0.076	-0.149	0.149	-0.000	1.000
N_M_cimento	-0.000	0.076	-0.149	0.149	-0.000	1.000
N_M_terra	-0.000	0.076	-0.149	0.149	-0.000	1.000
N_Local_Bairro	0.000	0.076	-0.149	0.149	0.000	1.000
N_Area_Verde	-0.000	0.076	-0.149	0.149	-0.000	1.000
N_DPP_Leish	0.000	0.076	-0.149	0.149	0.000	1.000
N_Elisa_Leish	-0.000	0.076	-0.149	0.149	-0.000	1.000
Reaçao_cruzada	0.000	0.000	0.000	0.000		