

LUIZ RICARDO PAES DE BARROS CORTEZ

Nova estratégia de controle da leishmaniose visceral americana em cães utilizando coleiras impregnadas com deltametrina na cidade de Bauru, estado de São Paulo

São Paulo
2022

LUIZ RICARDO PAES DE BARROS CORTEZ

Nova estratégia de controle da leishmaniose visceral americana em cães utilizando coleiras impregnadas com deltametrina na cidade de Bauru, estado de São Paulo

VERSÃO CORRIGIDA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

Departamento:

Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal

Área de concentração:

Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses

Orientador:

Prof. Dr. Rodrigo Martins Soares

São Paulo
2022

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

4241
FMVZ

Cortez, Luiz Ricardo Paes de Barros
Nova estratégia de controle da leishmaniose visceral americana em cães utilizando coleiras impregnadas com deltametrina na cidade de Bauru, estado de São Paulo / Luiz Ricardo Paes de Barros Cortez. – 2022.
64 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, São Paulo, 2022.

Programa de Pós-Graduação: Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses.

Área de concentração: Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Martins Soares.

1. Leishmaniose visceral canina. 2. Estudo de coorte. 3. Coleira impregnada com inseticida. 4. Métodos de controle. 5. Efetividade. I. Título.



Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Universidade de São Paulo

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "NOVA ESTRATÉGIA DE CONTROLE DA LEISHMANIOSE VISCERAL AMERICANA UTILIZANDO COLEIRAS IMPREGNADAS COM DELTAMETRINA NA CIDADE DE BAURU, ESTADO DE SÃO PAULO", protocolada sob o CEUA nº 7784301017 (ID 004950), sob a responsabilidade de **Rodrigo Martins Soares e equipe; Luiz Ricardo Paes de Barros Cortez** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 23/05/2018.

We certify that the proposal "NEW STRATEGY FOR CONTROL OF VISCERAL AMERICAN LEISHMANIASIS USING COLLARS IMPREGNATED WITH DELTAMETRIN IN THE CITY OF BAURU, STATE OF SÃO PAULO", utilizing 680 Dogs (males and females), protocol number CEUA 7784301017 (ID 004950), under the responsibility of **Rodrigo Martins Soares and team; Luiz Ricardo Paes de Barros Cortez** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 05/23/2018.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **12/2017** a **12/2019**

Área: **Epidemiologia Experimental Aplicada As Zoonoses**

Origem: **Animais de proprietários**

Espécie: **Cães**

sexo: **Machos e Fêmeas**

idade: **1 a 10 anos**

N: **680**

Linhagem: **QUALQUER RAÇA OU LINHAGEM**

Peso: **5 a 50 kg**

Local do experimento: **Município de Bauru, SP**

São Paulo, 06 de julho de 2022

Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Camilla Mota Mendes
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: CORTEZ, Luiz Ricardo Paes de Barros

Título: Nova estratégia de controle da leishmaniose visceral americana em cães utilizando coleiras impregnadas com deltametrina na cidade de Bauru, estado de São Paulo

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Data: ____ / ____ / ____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho àqueles que me inspiram, motivam e ajudam a manter viva a força necessária para a longa caminhada.

*À minha esposa **Danye**le e aos meus filhos **Júlia e Lucas**.*

Meus amores!

AGRADECIMENTOS

Um agradecimento muito especial ao meu estimado orientador Prof. **Rodrigo Marins Soares** pela oportunidade, incentivo, paciência, amizade, dedicação, ajuda, altruísmo e pelo desprendimento em compartilhar seus conhecimentos.

Aos professores **Fernando Ferreira, Marcos Amaku, Trícia de Sousa Oliveira, José H. Grisi Filho e Anaiá Paixão Sevá**, pela contribuição com as aulas nas disciplinas e a disposição para ajudar.

À **Prefeitura Municipal de Bauru**, representada pela **Secretaria Municipal de Saúde de Bauru – SP**, em especial ao secretário de saúde à época **José Eduardo Fogolin Passos**, ao colega e amigo **Mário Ramos de Paula e Silva** e ao prefeito **Clodoaldo Armando Gazzetta**, que acreditaram e viabilizaram o projeto desde o início.

Ao secretário de saúde **Sérgio Henrique Antônio**, sempre parceiro e amigo que confiou e manteve todo apoio à pesquisa.

Ao Conselho Municipal de Proteção e Defesa Animal de Bauru (COMUPDA), em especial às conselheiras **Thaís Viotto e Mariana Zwicker**, pela confiança e pelo fundamental apoio.

Aos funcionários da FMVZ-USP, em especial ao **Danival e Regina Valbom**, sempre atenciosos, amigos e dispostos a ajudar.

Aos colegas **João Leonel e Geovanna Vioti** pela amizade e apoio.

Aos queridos companheiros do Instituto Adolfo Lutz, **José Eduardo Tolezano, Roberto Hiramoto, Helena Taniguchi, Virgínia B. R. Pereira, Tatú e Baby**.

À **Patrícia Matsumoto e Raul Borges Guimarães** do Departamento de Geografia da UNESP de Presidente Prudente – SP pela colaboração.

À toda equipe da **SUCEN** Bauru.

Ao servidor **Francisco Xavier** e toda equipe de controle da leishmaniose visceral pela elaboração dos inquéritos sorológicos.

Ao funcionário da Secretaria Municipal de Saúde e amigo **Carlos Pereira da Silva** pela fundamental ajuda e dedicação.

Aos colegas servidores da Secretaria Municipal de Saúde, do Centro de Controle de Zoonoses de Bauru, em especial, **Dorival, Roldão, Josiane, Fernanda, Aline, Marli, Sirley e Donizete** pela inestimável ajuda.

Aos colegas de trabalho, **Valéria Medina Camprigher, Cláudia Gomieri, Murilo Vendramini Cuoghi, e Vanessa Campos** pelo apoio.

Aos membros da Comissão Científica da Secretaria Municipal de Saúde de Bauru, **Deborah, Marcela, Nildinha, Josiane, Rita, Roberta e Helton.**

E, em especial, aos meus pais **Abel e Marly**, à minha esposa **Danyele** e aos meus filhos **Júlia e Lucas** pelo apoio incondicional, carinho, dedicação, compreensão e paciência.

*As convicções são inimigos da verdade bem mais perigosos
que as mentiras.*

Friedrich Nietzsche

RESUMO

CORTEZ, L.R.P.B. Nova estratégia de controle da leishmaniose visceral americana em cães utilizando coleiras impregnadas com deltametrina na cidade de Bauru, estado de São Paulo. [New strategy to control visceral leishmaniasis in dogs by using deltamethrin impregnated collars in the city of Bauru, state of São Paulo, Brazil]. 2022. ...f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

A leishmaniose visceral (LV) é uma zoonose classificada como doença tropical negligenciada, atualmente não prevenível e transmitida por vetor artrópode. É um crescente problema global de saúde pública uma vez que as atuais medidas de controle baseadas, entre outras coisas, no diagnóstico e eliminação do reservatório canino, não têm sido capazes de reduzir a transmissão e a expansão territorial da doença. A presença de cães em área urbana, domiciliados ou comunitários, pode aumentar o risco para humanos, uma vez que cães são os principais reservatórios do parasita no ciclo urbano. A utilização de coleiras impregnadas com deltametrina a 4% em cães soronegativos, diagnosticados em inquéritos sorológicos caninos em área de transmissão, pode ser uma estratégia eficaz no controle da LV. Nesta pesquisa foi analisada a efetividade de uma estratégia alternativa de controle da doença fundamentada na substituição da eutanásia pela aplicação de coleira impregnada com deltametrina nos cães sororreagentes, identificados em inquéritos feitos em áreas de transmissão. A nova medida de controle, aqui denominada encoleiramento estratégico, foi empregada pelo Centro de Controle de Zoonoses de Bauru, SP entre os anos de 2018 e 2019. A avaliação da efetividade dessa estratégia foi feita por meio de uma análise prospectiva, comparando-se a incidência da presença de anticorpos anti-leishmania identificada pelos testes diagnósticos oficiais (TR-DPP e ELISA), entre os cães de dois bairros do município de Bauru, SP, sendo um deles onde se praticou a eutanásia de cães sororreagentes e outro somente, o aqui denominado, encoleiramento estratégico. Foram avaliados resultados de testes sorológicos aplicados em amostras de soro coletadas da totalidade dos cães dos dois bairros, em três tempos consecutivos, com intervalos de cerca de 200 dias entre eles. As comparações das incidências foram feitas entre as coortes, nos três tempos distintos, e dentro de cada coorte, nos mesmos tempos. A comparação entre as taxas de incidência de reatividade sorológica nos dois bairros durante o período do estudo

mostrou que a medida de encoleiramento estratégico foi 4 vezes mais efetiva que a eutanásia na redução da soropositividade dos cães. Os resultados deste estudo mostram que o encoleiramento estratégico apresenta-se como uma medida promissora para ser empregada no controle da LV em cães de áreas endêmicas, em especial por prescindir de eutanásia dos animais infectados, um procedimento controverso e de impacto negativo na sociedade.

Palavras-chave: Leishmaniose visceral canina. Estudo de coorte. Coleira impregnada com inseticida. Métodos de controle. Efetividade.

ABSTRACT

CORTEZ, L.R.P.B. New strategy to control visceral leishmaniasis in dogs by using deltamethrin impregnated collars in the city of Bauru, state of São Paulo, Brazil. [Nova estratégia de controle da leishmaniose visceral americana em cães utilizando coleiras impregnadas com deltametrina na cidade de Bauru, estado de São Paulo]. 2022. ...f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

Visceral leishmaniasis (VL) is a zoonosis classified as a neglected tropical disease, currently not preventable and transmitted by an arthropod vector. VL is a growing global public health problem because current control measures, based on diagnosis and elimination of the source of infection, among other things, have not been able to reduce the transmission and territorial expansion of the disease. The presence of domiciled, semi-domiciled or stray dogs in urban areas can increase the risk for humans, because dogs are the main reservoir of the parasite in the urban cycle. Recent studies have shown that the use of 4% deltamethrin-impregnated collars in seronegative dogs diagnosed in canine serological surveys carried out in the transmission area can be an effective strategy in the control of VL, however, in these studies the controversial euthanasia of positive dogs was part of the measures of control evaluated. In this study, an alternative strategy to control the disease was analyzed, based on replacing euthanasia with the application of a collar impregnated with deltamethrin in seroreactive dogs identified in surveys carried out in areas of transmission. The new strategy, here called strategical collaring, was employed by the Center for Zoonosis Control (CZC) in the municipality of Bauru, SP throughout 2018 and 2019. The evaluation of the effectiveness of this strategy was carried out through a prospective analysis, in order to compare the incidence of antibodies identified by official diagnostic tests (TR-DPP and ELISA) among dogs from two districts of the city of Bauru SP, one of them where the euthanasia of infected dogs was practiced as a method of VL control and the other, the strategical collaring. Results of serological tests applied to serum samples collected from all the dogs in the two neighborhoods were evaluated, in three consecutive times, with intervals of about 200 days between them. Comparisons of incidences were made between cohorts at three different times and within each cohort at the same times. The comparison between the incidence rates of serological reactivity in the two neighborhoods during the study period showed that the

strategical collaring measure was up to 4 times more effective than euthanasia in reducing the seropositivity of dogs. The results of this study show that reverse collaring is a promising measure to be used in the control of VL in dogs in endemic areas, especially as it does not require euthanasia of infected animals, a controversial procedure with a negative impact on society.

Keywords: Canine visceral leishmaniasis. Cohort Study. Collar impregnated with insecticide. Control methods. Effectiveness.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Série histórica de casos e óbitos humanos por LV em área urbana de Bauru-SP, 2003-2021	20
Figura 2 - Posição geográfica do município de Bauru no estado de São Paulo e localização dos bairros estudados.	29
Figura 3 - Mapa de Bauru, SP, mostrando as populações teste e controle (Bairros Isaura e Gasparini).....	30
Figura 4 - Vista do Bairro N.Hab. Isaura P. Garms (bairro teste).....	31
Figura 5 - Vista do Bairro N. H. Edson B. Gasparini (bairro controle)	31
Figura 6 - Teste TR-DPP® - Bio-Manguinhos com resultados reagente (esquerda) e não reagente (direita)	32
Figura 7 - Placa ELISA (EIE-LVC Bio-Manguinhos).....	33
Figura 8 - Linha do tempo para a participação dos animais dos bairros teste (coleira) e controle (eutanásia).....	35
Figura 9 - Diagrama de Venn representando a participação dos 1006 cães triados no bairro teste nos inquéritos realizados nos tempos 1 a 3.	43
Figura 10 - Diagrama de Venn representando a participação dos 1558 cães triados no bairro controle nos inquéritos realizados nos tempos 1 a 3.....	43
Figura 11 - Mudança de status dos animais do conjunto de cães avaliados em todos os tempos do estudo, a partir de T1 (T1, T2 e T3).	44
Figura 12 - Mapa de Bauru-SP, mostrando cães das coortes teste e controle (Bairros Isaura e Gasparini) que fizeram soroconversão nos períodos “T1-T2” e “T2- T3”.....	48
Figura 13 - Linha do tempo para a participação dos animais de cada bairro, tempos de aplicação e início da ação das medidas de controle.	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Participação nas coortes e tempo de participação de cada cão, de acordo com a evolução de seus status sorológicos em T1, T2 e T3.....	39
Tabela 2 - Frequência de ocorrência de reatividade para LVC, detectada por TR-TR-DPP + ELISA em 3 tempos. Valores para limites menor e maior de intervalo de confiança 95% estão entre colchetes.....	45
Tabela 3 - Perdas de acompanhamento dos cães entre os tempos T0, T1, T2 e T3 para o bairro teste e bairro controle.....	45
Tabela 4 - Taxa de confirmação (TC) de resultados positivos em TR-DPP pelo teste de ELISA nos tempos 0 a 3 (T0 a T3) realizados em amostras de cães provenientes dos bairros controle e teste.....	46
Tabela 5 - Estimativas de risco relativo (RR) para a reatividade sorológica para LV em populações de cães de um mesmo bairro, avaliadas em períodos subsequentes (avaliação intrabairros) e para populações de bairros diferentes avaliadas em um mesmo período (avaliação interbairros).....	47

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 JUSTIFICATIVAS	25
3 OBJETIVOS.....	28
4 MATERIAIS E MÉTODOS	29
4.1 POPULAÇÃO EM ESTUDO	29
4.2 DELINEAMENTO DO ESTUDO	32
4.3 ABORDAGEM DOS ANIMAIS.....	36
4.4 ASPECTOS ÉTICOS	37
4.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	38
5 CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO	41
6 RESULTADOS.....	42
7 DISCUSSÃO	49
8 CONCLUSÕES	55
9 REFERÊNCIAS.....	56

1 INTRODUÇÃO

As leishmanioses visceral e tegumentar são causadas por protozoários difásicos que pertencem à ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae e gênero *Leishmania* (GREENE, 2006). As espécies causadoras de leishmanioses na América Latina são divididas em dois grupos taxonômicos, subgênero *Viannia* e subgênero *Leishmania*. No Brasil, a espécie causadora da leishmaniose visceral (LV) é a *Leishmania (Leishmania) infantum* (LAINSON; SHAW, 1998).

Embora a sinonímia de *Leishmania chagasi* e *Leishmania infantum* seja aceita por vários autores e bem caracterizada por critérios moleculares (MAURICIO, et al., 1999), os nomes *L. chagasi* e *L. infantum* continuam sendo utilizados (CUPOLILLO; BOITÉ; PORROZZI, 2014). Apesar das evidências publicadas sugerirem a sinonimização das espécies, Shaw (2006) manifestou dúvidas a respeito dos dois parasitas serem idênticos e recomendou cautela.

A LV é um problema global de saúde pública, que ocorre em diferentes regiões do mundo, como América do Sul, Europa Mediterrânea, África e Ásia (DESJEUX, 2004; WHO, 2013). A doença se espalhou rapidamente nas últimas décadas, com novos casos sendo registrados em áreas urbanas. No estado de São Paulo, Brasil, a LV continua em expansão e já foi detectada em mais de 107 municípios (RANGEL, 2020).

A maioria dos casos ocorre no Brasil, África Oriental e na Índia e, se não tratada a LV é fatal em mais de 95% dos casos. Estima-se que ocorram cerca de 50.000 a 90.000 novos casos de LV por ano em todo o mundo. A LV continua sendo uma das principais doenças parasitárias com potencial de surto e mortalidade. Em 2019, mais de 90% dos novos casos notificados à OMS ocorreram em 10 países: Brasil, Etiópia, Eritreia, Índia, Iraque, Quênia, Nepal, Somália, Sudão do Sul e Sudão (OPAS, 2020).

A LV é uma doença infecciosa de caráter zoonótico presente em quase todo o território nacional sendo uma das principais doenças transmitidas por vetores que ocorrem no Brasil (MARCONDES; ROSSI, 2013).

A transmissão da LV ocorre após a picada de vetores dípteros da família Psychodidae, conhecidos como flebotomíneos, sendo *Lutzomyia logipalpis* e *Lutzomyia cruzi* as espécies mais comumente encontradas nas américas (BRASIL, 2014). As fêmeas fazem postura de aproximadamente 40 a 70 ovos em local úmido e protegido de luz, contendo matéria orgânica. Geralmente picam no crepúsculo ou à

noite em áreas pouco pilosas como focinho, orelha e região genital dos cães (MARCONDES, 2001). O período pré-patente médio da infecção canina por *L. (L.) infantum* é de 3 meses (QUINNELL et al., 1997).

A ocorrência de casos caninos ou humanos de LV em áreas onde são predominantes as espécies *Pintomyia fischeri* e *Migonemyia migonei*, nas quais não foram detectados flebotomíneos do complexo de espécies *Lutzomyia longipalpis*, tem reforçado a suspeita de que estes também poderiam participar como vetores na cadeia de transmissão da LV. Na região do município de Embu das Artes, na grande São Paulo, a espécie *Pintomyia fischeri* (Pinto, 1926) tem sido implicada como potencial vetor de *L. (L.) infantum*, porém, a infecção natural ainda não foi determinada (GALVIS-OVALLOS et al., 2021).

O processo de urbanização da LV, precedido por uma expansão de caráter rural, se deu no Brasil em decorrência de alterações ambientais como desmatamento e processos migratórios de urbanização. A adaptabilidade do *Lu. longipalpis* ao ambiente doméstico exerceu importante papel nesse processo (MONTEIRO et al., 2005). O padrão epidemiológico rural guarda algum grau de similaridade com os heterogêneos cenários urbanos (WERNECK, 2008).

No Brasil, a doença continua se espalhando a despeito das ações voltadas para a eliminação das fontes de infecção recomendadas pelo PVCLV. No Estado de São Paulo os primeiros casos ocorreram na região noroeste e a disseminação vem ocorrendo na direção sudeste, obedecendo os seguintes critérios (nos quais a cidade de Bauru se enquadra): presença do vetor competente, relacionada com a proximidade do gasoduto Brasil-Bolívia e altas temperaturas (20-23°C); presença de cães infectados cuja dispersão vêm seguindo a rodovia Marechal Rondon e, a ocorrência de casos humanos está relacionada ainda com precipitação anual média entre 270 e 540mm (SEVÁ et al., 2017).

Os primeiros casos autóctones do estado de São Paulo ocorreram em 1999 no município de Araçatuba, SP, e a expansão da LV no estado teve como possíveis fatores determinantes a construção do gasoduto Brasil-Bolívia, e a presença de eixos viários como a rodovia Marechal Rondon e a Malha Oeste da Ferrovia Novoeste (CARDIM et al., 2013).

O primeiro caso de LV canina no município de Bauru, SP, foi confirmado em 2002, com o diagnóstico feito em uma clínica veterinária particular. No mesmo ano, mais um caso foi confirmado pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da

UNESP de Botucatu em cão residente na Vila Quaggio (BAURU, 2013). Em 2003, ocorreu a confirmação do primeiro caso autóctone de LV Humana em um indivíduo residente na Vila Quaggio. Neste mesmo ano foram confirmados mais outros 14 casos humanos, com o registro de 2 óbitos (BAURU, 2013).

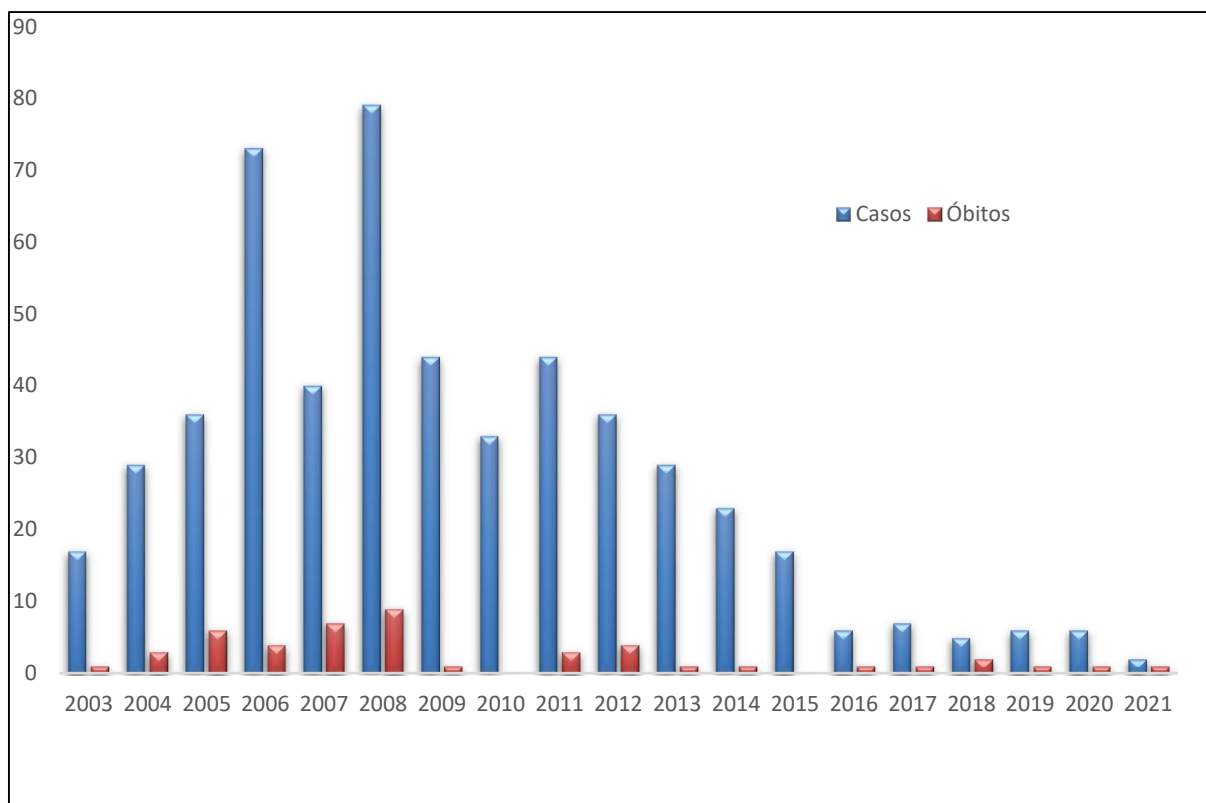
A partir de 2003, foram registrados casos humanos em todos os anos em Bauru, sendo os anos de 2006 e 2008 os de maior incidência, com 73 e 79 casos registrados, respectivamente. Em 2008, ocorreram 8 óbitos por LV humana no município, o maior índice registrado em toda a série histórica (BAURU, 2013). Após 2008, o município de Bauru manteve a maior prevalência de casos no Estado de São Paulo (BAURU, 2013).

A distribuição espacial da LV em Bauru indica maior ocorrência em bairros periféricos e com baixas condições urbanísticas e socioeconômicas (SIMÃO, 2018; SOUZA et al., 2013).

Ortiz e Anversa (2015) observaram uma concentração de casos humanos de LV em homens moradores de bairros periféricos com baixa escolaridade e sob condições precárias de infraestrutura. Os autores sugerem a necessidade de esforços para otimizar o controle da LV com ações educativas em saúde e meio ambiente.

Atualmente, o município de Bauru é classificado como município endêmico com transmissão intensa de LV. A classificação é feita de acordo com a intensidade de transmissão da doença pelo cálculo da média de casos autóctones em três anos consecutivos, considerando o período de 2014 a 2017. Foram considerados “prioritários” para as ações do Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (PVCLV) os municípios classificados como de transmissão moderada e intensa (HIRAMOTO, 2019).

Figura 1 - Série histórica de casos e óbitos humanos por LV em área urbana de Bauru-SP, 2003-2021



Fonte: Secretaria Municipal de Saúde de Bauru, Cortez (2022)

O controle da LV no Brasil é baseado, entre outras medidas, no diagnóstico precoce e tratamento adequado dos casos humanos, no controle do vetor, na educação em saúde e principalmente no controle do reservatório canino por meio do sorodiagnóstico e eliminação dos cães positivos. De acordo com o Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (PVCLV), municípios localizados em áreas endêmicas (com transmissão esporádica, moderada ou intensa) devem realizar anualmente um inquérito sorológico canino amostral e para aqueles onde forem observadas prevalências superiores a 2%, um inquérito censitário que deverá ser repetido por três anos consecutivos (BRASIL, 2014).

No Brasil, apesar da recomendação de eutanásia do cão sororreagente ou exame parasitológico positivo, prevista pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2022), nem todos os cães reagentes em inquéritos sorológicos manifestam a doença clínica e parte destes pode retornar espontaneamente para o status soronegativo, (POZIO et al., 1981). A partir de um levantamento feito em Monte Argentario, Itália, Pozio et al. (1981) acompanharam, pelo período de um ano, 34 dos 41 cães positivos em reação de imunofluorescência indireta (RIFI), dos quais 40% apresentavam sinais clínicos da

leishmaniose visceral canina (LVC). Entre os cães sintomáticos, 88% morreram no período. Porém, dos cães assintomáticos, 64% continuaram estáveis, sendo que 52% passaram a responder negativamente nos testes sorológicos. Dos cães inicialmente assintomáticos, 36% adoeceram e metade desses evoluíram a óbito no final do período.

Os testes diagnósticos TR-DPP (*Dual Path Platform* - TR-DPP® Bio-Manguinhos) e ELISA (Ensaio Imonoenzimático - EIE Bio-Manguinhos) são realizados em série como testes oficiais e os cães reagentes são encaminhados para a eutanásia (BRASIL, 2014). Esse protocolo diagnóstico foi implantado pelo Ministério da Saúde em 2011 com a finalidade de melhorar a acurácia dos testes e agilizar a retirada dos cães infectados (BRASIL, 2011).

Apesar das medidas tomadas pelo Ministério da Saúde, Lopes et al. (2017) observaram uma baixa acurácia no diagnóstico oficial que falhou em detectar 174 (19,6%) cães infectados (reagentes em qPCR) em 887 (não reagentes em TR-DPP) testados.

As medidas previstas no PVCLV se demonstraram insuficientes para reduzir a transmissão e impedir a ocorrência de novos casos (GONTIJO; MELO, 2004).

O tempo excessivo decorrido entre a colheita de material no campo e a eutanásia dos cães soropositivos também interfere negativamente no resultado dessa estratégia (COURTENAY et al., 2002).

Entre os fatores que implicam na dificuldade de controle da LV estão o longo período de incubação tanto no cão como no homem e a descontinuidade das medidas de controle que favorece a transmissão (CAMARGO-NEVES, 2005).

Grandes cidades brasileiras com transmissão de LV apresentam dificuldades na execução das atividades do PVCLV e não desenvolvem integralmente as atividades preconizadas pelo programa, seja por dificuldades de caráter estrutural das prefeituras, ou por resistência dos sujeitos envolvidos com a doença (ZUBEN; DONALISIO, 2016).

As dificuldades enfrentadas pelo poder público, como falta de recursos materiais, humanos e financeiros para a execução das atividades previstas no PVCLV, além das questões éticas e jurídicas, tornam insuficientes as estratégias atualmente preconizadas para o controle da LV (COSTA, et al., 2020).

No Brasil, apesar da proibição do tratamento da LVC com produtos de uso humano ou não registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

(BRASIL, 2008) e a recomendação da eutanásia do cão reagente nas provas oficiais prevista no programa de controle, a possibilidade de tratamento de cães com LVC ocorreu após a aprovação da nota técnica conjunta entre os Ministérios da Saúde e Agricultura Pecuária e Abastecimento que autoriza o registro do medicamento Milteforan®, que tem a miltefosina como princípio ativo, para o tratamento canino de LVC e recomenda o uso de repelentes para o flebotômico nos cães tratados (BRASIL, 2016).

O tratamento de cães com miltefosina é eficaz em reduzir os sintomas da doença em cães, e a infectividade destes ao flebotômico (MAGALHÃES-JUNIOR et al., 2016; DOS SANTOS NOGUEIRA et al., 2019). A terapia combinada com o alopurinol permite a redução da dose padrão de miltefosina, bem como os principais efeitos gástricos adversos da droga (IARUSSI et al., 2020).

Medidas adicionais para o controle da LV são imperativas e têm movimentado diversos pesquisadores. O uso de colares impregnados com deltametrina mostrou-se ferramenta eficaz no controle da doença (DANTAS-TORRES; BRANDÃO-FILHO, 2006).

O uso de coleiras impregnadas com deltametrina a 4% tem se mostrado ferramenta eficaz no controle da LV e deve fazer parte da lista de atividades atualmente recomendadas pelo Ministério da Saúde, pois as estratégias atuais, como a eutanásia de cães infectados, são impopulares (SILVA et al., 2018).

Coleiras impregnadas com inseticidas foram eficazes na proteção do cão contra as picadas do mosquito *Lutzomyia longipalpis* bem como redução do risco de LV em crianças (KILLICK-KENDRICK et al. 1997, DAVID et al., 2001; GAVGANI et al., 2002; REITHINGER et al., 2004; LOPES et al., 2018).

Os resultados obtidos por Camargo-Neves et al. (2004 a) como a redução da incidência humana da LV de 34,1 casos/100.000 habitantes em 2002 para 3,6 casos/100.000 habitantes em 2004 e redução da prevalência canina à valores abaixo de 5% apontaram para uma efetividade da utilização das coleiras impregnadas com deltametrina, apesar de não ter sido possível afirmar que apenas a utilização da coleira levaria a uma redução desses indicadores, pois essa medida foi associada à eliminação de cães soropositivos. Este estudo, realizado em Andradina-SP, foi baseado no diagnóstico e eutanásia dos cães soropositivos e simultânea colocação de coleiras impregnadas com deltametrina nos cães não reagentes no inquérito sorológico.

O uso da coleira impregnada com deltametrina pode apresentar maior efetividade que a estratégia de controle da LV baseada no diagnóstico e eliminação do cão reagente, dependendo das taxas de cobertura de encoleiramento e de perda das coleiras (REITHINGER et al., 2004).

A aplicação maciça de coleiras impregnadas com deltametrina em cães protege os cães de infecções e pode reduzir o risco de infecção por *L. (L.) infantum* em crianças. A utilização dessas coleiras poderá alterar os controversos programas de eliminação de cães em alguns países (COURTENAY et al., 2019; GAVGANI et al., 2002).

A efetividade do uso das coleiras impregnadas com deltametrina 4% em programas de controle da LV está relacionada aos efeitos repelente e inseticida da coleira com redução da taxa de alimentação e aumento da taxa de mortalidade do mosquito *Lutzomyia longipalpis* que podem chegar a 96 e 90%, respectivamente, em média (DAVID et al., 2001).

Além da proteção contra as picadas observada, avaliações clínicas em cães soroconvertidos sugerem que a utilização de coleiras impregnadas com deltametrina resulta em proteção, tanto quanto a frequência como quanto a gravidade dos sinais clínicos. Os sinais de LVC foram significativamente mais frequentes (90% contra 36%) e rapidamente progressivos em cães sem coleira e a razão para isso pode ser explicada pelo efeito repelente das coleiras, resultando em menor número de picadas infecciosas do vetor. (FOGLIA MANZILLO et al., 2006).

O uso em massa das coleiras impregnadas com deltametrina, em áreas de transmissão da LV, por meio do encoleiramento de cães não reagentes após inquérito sorológico canino tem demonstrado potencial para reduzir a incidência de LVC e pode ser uma estratégia eficaz no controle da LV (KAZIMOTO et al, 2018; TOLEZANO et al., 2018; SILVA et al. 2019). Kazimoto et al. (2018) observaram uma redução da incidência de LVC de 53 a 59% enquanto Silva et al. (2019) estimaram a eficácia da estratégia em 70,27%.

Em estudo realizado nos municípios de Teresina-PI, Montes Claros-MG, Araguaína-TO, e dos municípios cearenses de Fortaleza, Canindé, Maracanaú e Eusébio, Alves et al. (2020) observaram uma redução significativa na prevalência canina, por volta de 50%, em relação às áreas onde foram executadas as medidas convencionais previstas no PVCLV.

Matsumoto et al. (2022), observaram 63% de eficácia média da estratégia de encoleiramento de cães soronegativos, sendo que em áreas de baixa renda a eficácia foi maior (76% contra 45% nas áreas de alta renda).

Variáveis socioeconômicas e ambientais são importantes e devem direcionar as novas políticas públicas de controle da LV, por meio de análises espaciais (MATSUMOTO et al., 2021).

Entre os desafios para o controle da LV no Brasil estão presentes a controvérsia relacionada à ética e eficácia da eutanásia de cães soropositivos e o custo associado à distribuição de coleiras inseticidas para cães (MARCONDES; DAY, 2019).

Apesar das dificuldades relacionadas à eutanásia dos cães infectados, a metodologia prevista nos programas oficiais tem contribuído para a redução da prevalência canina nas áreas de transmissão e deverá ser substituída conforme medidas alternativas de controle se mostrarem custo-efetivas (COSTA et al., 2020).

A estratégia de encoleiramento dos cães não reagentes, como complemento das medidas convencionais de controle da LV, demonstrou ser altamente custo-efetiva. Sendo os maiores custos aqueles relacionados com a triagem sorológica da infecção por TR-DPP e ELISA (R\$ 20,32) e o sacrifício dos cães reagentes (R\$ 459,00). O custo da coleira Scalibor® tamanho grande (65cm), substituída a cada 6 meses foi estimado em R\$ 11,97, considerando que, em média, duas coleiras contemplavam em 3 animais (ASSIS et al., 2020).

2 JUSTIFICATIVAS

Doenças transmitidas por vetores artrópodes poderão apresentar grande expansão territorial em virtude de problemas relacionados a condições climáticas (RANDOLPH, 2010). O aquecimento global deverá causar grande impacto sobre a distribuição geográfica do artrópode transmissor da LV no Brasil e no mundo. As leishmanioses são consideradas, até o momento, doenças não preveníveis e seu padrão epidemiológico vem se alterando de forma flagrante, o que demanda urgência para o desenvolvimento de novas ferramentas de controle e tratamento (COSTA et al., 2011).

As medidas de controle previstas no Manual de Vigilância e Controle da LV recomendadas pelo Ministério da Saúde em 2003, vêm sendo aplicadas no Brasil há mais de quinze anos, sem resultar em efetivo controle da doença. A estratégia para o controle prevista no PVCLV, após anos de investimento, se mostra insuficiente para impedir a disseminação da doença (WERNECK, 2010).

A eutanásia de cães soropositivos, por ser uma medida drástica e contrária a princípios gerais do direito dos animais, é muito questionada e combatida, com evidente aumento nas recusas de entrega do cão soropositivo para a eutanásia e para colheita de sangue de cães nos inquéritos sorológicos caninos. A eutanásia dos cães soropositivos como instrumento para controle da LV vem gerando grande debate entre a comunidade científica, médicos veterinários, autoridades sanitárias e a comunidade em geral (RIBEIRO, 2005).

O grande espaço de tempo entre a colheita de sangue e a eliminação do cão, associado à recusa da população à medida, e as dificuldades encontradas no controle químico do vetor, que o tornam inviável ao longo do tempo têm sido apontados como possíveis fatores para a ineficácia das medidas de controle adotadas no Brasil atualmente. E ainda, o sucesso de estratégias eficazes para o controle da LV depende, entre outras coisas, do grau de adesão da população ao programa de controle. (CAMARGO-NEVES, 2004a, 2004b).

Nesse sentido, é o presente estudo com o objetivo de avaliar o emprego da coleira impregnada com deltametrina de uma maneira não convencional e inversa à maneira como é prescrita usualmente, estimando a efetividade desta estratégia de controle da LV na redução da incidência canina.

Como o uso da coleira em cães não infectados tem se mostrado eficaz na diminuição da transmissão da doença, pois impede que cães suscetíveis sejam picados, por causa da ação repelente do inseticida, no caso do encoleiramento estratégico era de se esperar que tal efeito repelente também acontecesse com a coleira sendo utilizada em cães infectados. Então, o encoleiramento de cães infectados teria um efeito semelhante e comparável à eliminação da fonte de infecção pela eutanásia, pois de cães infectados e encoleirados o mosquito é repellido de fazer o repasto, mas se o fizer, o inseto acaba sendo exposto ao efeito inseticida do produto.

Os efeitos repelente e inseticida conferidos pela coleira impregnada variaram, respectivamente, de 96 a 100% e de 90% (inicialmente) a 35% (na 35 semana), resultando em inibição de alimentação ou morte do vetor *Lu. longipalpis*. (DAVID et al., 2001)

Além disso, o emprego de coleira nos cães positivos substituiria a eutanásia somente nos casos em que o proprietário fizesse essa opção.

Essa nova estratégia apresenta as seguintes vantagens:

- 1) Potencial aumento da adesão da população por ser uma medida muito mais simpática e coincidente com questões éticas e humanitárias, demonstrando preocupação com o bem-estar dos animais;
- 2) Apresenta um custo bem menor quando comparada com a aplicação de coleira nos cães soronegativos, pois em geral a LV ocorre em uma parcela minoritária da população em uma área endêmica. Na cidade de Bauru, SP, a prevalência sorológica aos testes TR-DPP + ELISA em cães é de cerca de 10% (Cortez, dados pessoais), ou seja, nestas condições seriam encoleirados 10% da população canina;
- 3) Espera-se um efeito protetor maior contra a transmissão com o uso da coleira com deltametrina em cães infectados, quando comparado ao seu uso em cães suscetíveis, pois serão somados os efeitos repelente e inseticida da coleira.
- 4) Muitos tutores de cães soropositivos, assintomáticos no momento do exame se recusam a aceitar a eutanásia ao primeiro contato. Contudo, posteriormente, após a apresentação dos sintomas que ocorre em média após quatro meses, muitos tutores optam pela eutanásia (Cortez, dados pessoais). Esses cães apresentarão menor infectividade para o mosquito durante esse período, quando encoleirados;

- 5) Possibilidade de acompanhar animais que inicialmente responderam positivamente no teste sorológico ou manifestaram sintomatologia clínica e que podem evoluir para a cura. Animais nestas condições são eliminados, segundo a recomendação do programa atual de controle, mas não com o encoleiramento estratégico.
- 6) Redução do tempo decorrido entre a colheita de material para diagnóstico e a ação sobre a fonte de infecção (encoleiramento). Neste caso, não haverá necessidade de prova comprobatória. Se positivo na triagem o animal poderá ser imediatamente encoleirado.

3 OBJETIVOS

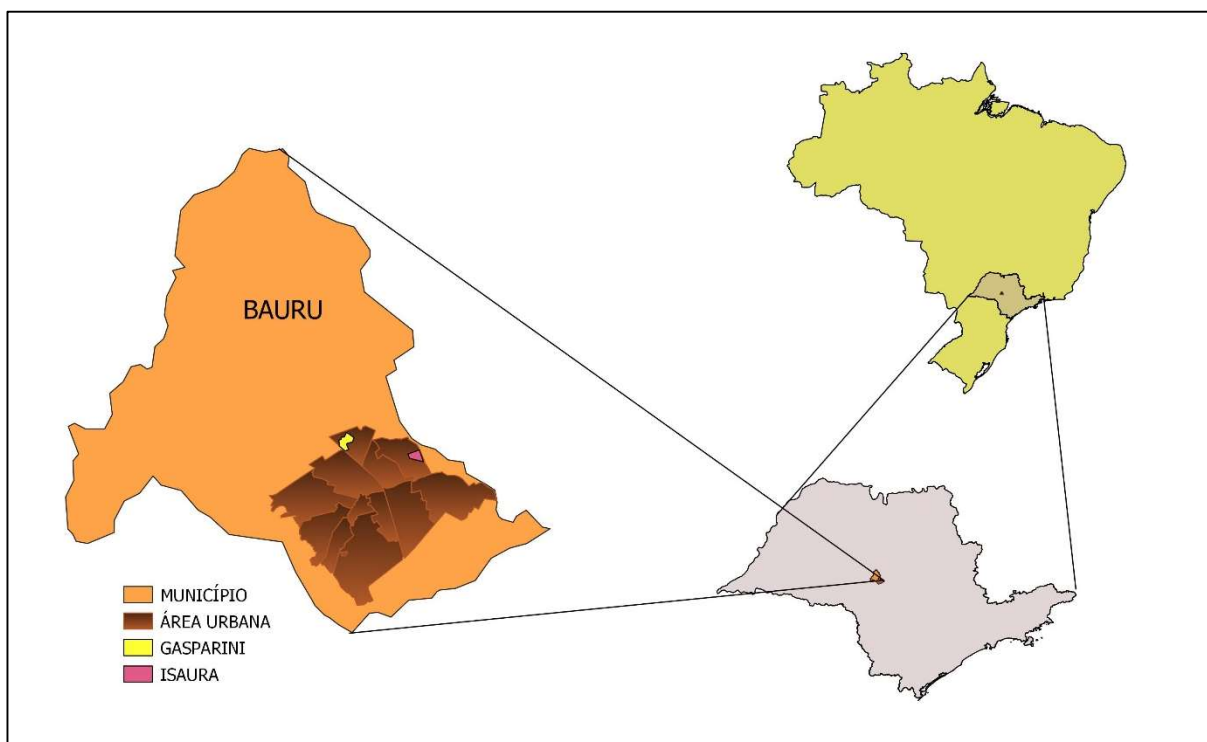
O presente estudo teve como objetivo avaliar a efetividade do encoleiramento de cães soropositivos na redução da incidência da reatividade sorológica para LV em cães de uma área endêmica urbana.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 POPULAÇÃO DE ESTUDO

O estudo foi realizado no município de Bauru, SP, em dois bairros distintos: Conjunto Habitacional Isaura Pitta Garms (bairro teste) e Núcleo Habitacional Edison Bastos Gasparini (bairro controle).

Figura 2 - Posição geográfica do município de Bauru no estado de São Paulo e localização dos bairros estudados



Fonte - Cortez (2022)

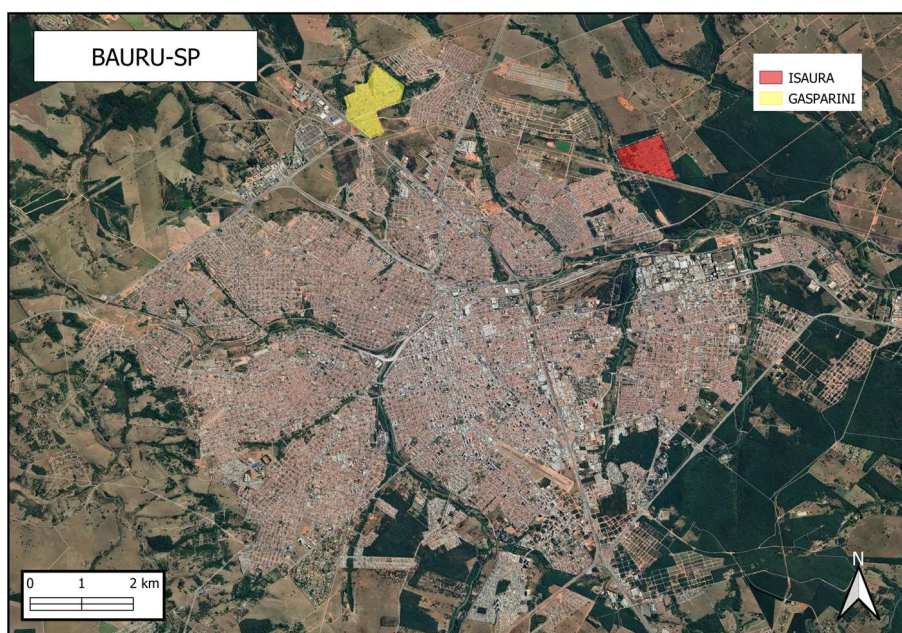
O município está localizado próximo ao centro geográfico do estado de São Paulo, situa-se a 22°18'54" de latitude sul e 49°03'39" de longitude oeste, à noroeste da capital, distando desta cerca de 326 km. Com posição geográfica estratégica, Bauru vem se caracterizando como importante entroncamento aéreo, rodoviário e ferroviário (Figura 2).

A cidade ocupa uma área de 673,488 km², sendo 68,9769 km² em perímetro urbano e 604,51 km² em zona rural. O clima em Bauru é tropical (Aw de acordo com a Köppen e Geiger) e apresenta uma temperatura média anual de 22,6 °C. Tem uma

pluviosidade média anual de 1.357 mm, sendo mais chuvoso no verão. O cerrado é a vegetação original predominante. Em 2020 sua população foi estimada pelo IBGE em 379.297 habitantes com 98,5% de seus habitantes vivendo na zona urbana. O seu Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) é de 0,801 (IBGE, 2017).

Ambos os bairros estudados estão localizados no macroterritório norte de Bauru, SP, que apresentou soroprevalência média de 8% (7% - 9%) em 2018 (Cortez, dados pessoais). Além de exibirem valores similares de prevalência para a LVC, apresentam margens bem delimitadas, são periféricos e geograficamente isolados sem contiguidade com outros bairros (Figura 3). Os dois bairros apresentam características socioeconômicas semelhantes (Figuras 4 e 5). Ambos foram construídos pela Companhia de Habitação Popular de Bauru (COHAB), órgão regido pelo Sistema Financeiro de Habitação do Governo Federal e voltado a construção de moradias populares destinadas à população de baixa renda (COHAB-BAURU, 2008).

Figura 3 - Mapa de Bauru, SP, mostrando as populações teste e controle (Bairros Isaura e Gasparini)



Fonte – Cortez (2022)

Figura 4 - Vista do Bairro N. Hab. Isaura P. Garms (bairro teste)



Fonte – Cortez (2022)

Figura 5 - Vista do Bairro N. H. Edson B. Gasparini (bairro controle)



Fonte – Cortez (2022)

4.2 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Com a finalidade de comparar a utilização de coleiras impregnadas com inseticida em cães soropositivos para LV em áreas de transmissão da doença com a eutanásia de cães soropositivos, estratégia atualmente aplicada e prevista pelo PVCLV, foi avaliada a incidência da reatividade sorológica em dois bairros, cada um sob a vigência de uma das estratégias de controle. A reatividade sorológica foi avaliada com os testes TR-DPP (Teste Rápido - *Dual Path Platform* TR-DPP®) e ELISA (Ensaio Sorológico Imunoenzimático EIE-LVC), ambos produzidos pelo laboratório de Bio-Manguinhos FIOCRUZ – Rio de Janeiro.

O TR-DPP é um teste imunocromatográfico para detecção indireta da presença de *L. (L.) infantum* em amostra de sangue, soro ou plasma baseado na evidenciação da reação de IgG com o antígeno recombinante K28 (Figura 6).

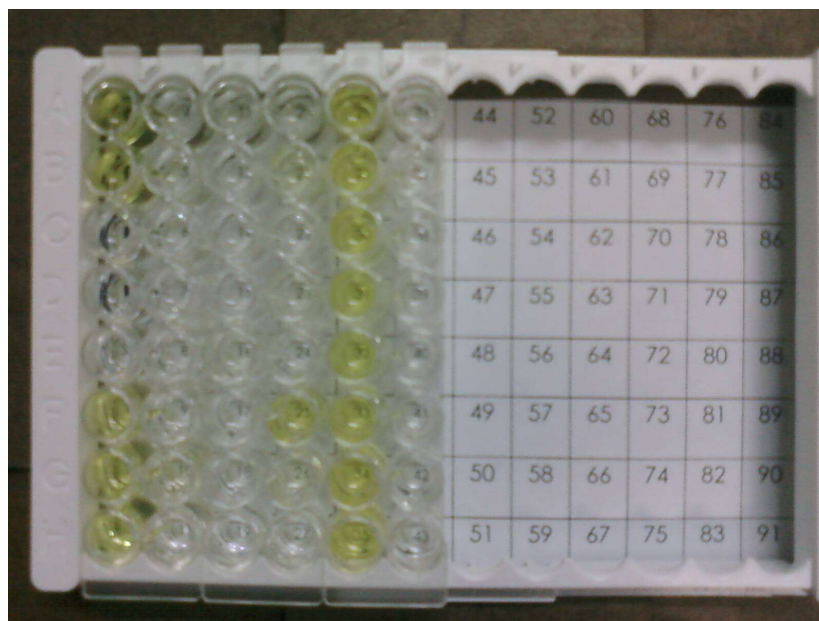
Figura 6 - Teste TR-DPP® Bio-Manguinhos com resultados positivo (esquerda) e negativo (direita)



Fonte – Cortez (2022)

O teste ELISA se baseia na reação sorológica de antígenos solúveis purificados de promastigotas de *L. major*-like, adsorvidos aos poços das placas de microtitulação, com anticorpos específicos presentes em amostras de soro, analisada em leitoras de microplacas, em absorvância com filtro de 450nm, com *cut-off* de duas vezes a absorvância do soro controle negativo, conforme orientação do fabricante do teste (Figura 7).

Figura 7 - Placa ELISA (EIE-LVC Bio-Manguinhos)



Fonte – Cortez (2022)

O teste ELISA é utilizado como confirmatório, sendo realizado nas amostras de soro dos cães reagentes ao teste TR-DPP, conforme determina o PVCLV.

O critério para a definição de cão positivo foi dado pela reação positiva nas provas realizadas em série nas duas populações caninas estudadas. Cães testados positivos por TR-DPP (teste de triagem) foram retestados por ELISA (teste confirmatório). Somente após confirmação ao segundo teste, a amostra foi considerada soropositiva.

As populações avaliadas eram provenientes de dois bairros distintos da cidade de Bauru, SP (Figura 3). Os inquéritos foram programados para investigar a totalidade da população canina dos dois bairros.

No ano de 2018, a Prefeitura Municipal de Bauru, por meio do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) do município, empreendeu as duas medidas de controle (convencional e alternativa), uma em cada bairro de estudo. Cinco meses antes, nos meses de setembro e outubro de 2017, as populações dos bairros teste e controle foram investigadas por meio de inquéritos sorológicos amostrais, conforme metodologia descrita no Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral Americana do Estado de São Paulo (SÃO PAULO, 2006), considerando uma prevalência de LVC esperada de 8% nos dois bairros. Em setembro e outubro de 2017 (tempo 0) os bairros teste e controle apresentaram prevalências de anticorpos sem

diferença estatisticamente significativa: 5,7%, IC 95% [2,7-10,5%] e 7,0%, IC 95% [3,7-12,0%], respectivamente. Os dados obtidos com este inquérito preliminar foram incluídos na seção Resultados.

No bairro teste foram adotadas medidas do protocolo alternativo descrito neste estudo e detalhado abaixo. Nesse bairro também foi feito inquérito censitário com uso das provas TR-DPP e ELISA, mas os cães soropositivos no teste TR-DPP, independentemente do resultado do teste de ELISA, receberam as coleiras impregnadas com deltametrina.

No bairro controle, foram adotadas as medidas convencionais previstas pelo PVCLV que determina, como uma das medidas relativas ao reservatório em áreas de transmissão, a realização de inquérito sorológico canino censitário com uso em série das provas TR-DPP e ELISA para diagnóstico e posterior eliminação dos cães soropositivos.

As duas populações foram investigadas em quatro momentos diferentes, tempo 0 (T0), tempo 1 (T1), tempo 2 (T2) e tempo 3 (T3).

- ✓ Tempo 0 (T0): foram feitos inquéritos sorológicos amostrais em cães dos bairros controle e teste.

- ✓ Tempo 1 (T1): foram feitos inquéritos sorológicos censitários em cães dos dois bairros, aplicação das coleiras nos cães classificados como reagentes do bairro teste e recolhimento para eutanásia dos cães classificados como reagentes bairro controle. T1 é considerado como início do estudo.

- ✓ Tempo 2 (T2): foram feitos inquéritos sorológicos censitários e avaliação dos cães de ambos os bairros. Foi feita também a substituição das coleiras nos animais do bairro teste.

- ✓ Tempo 3 (T3): foram feitos inquéritos sorológicos censitários, avaliação dos animais das populações caninas dos bairros controle e teste além da substituição das coleiras dos cães sororreagentes em T1 no bairro teste.

No tempo 3, a etapa de colheita de amostras em inquéritos sorológicos em cada uma das populações (teste e controle) foi finalizada.

Os períodos entre os tempos T0, T1, T2 e T3 são: “T0-T1”, “T1-T2”, “T2-T3” e “T0-T3”.

Os períodos nos quais os animais das populações teste e controle foram investigados nos bairros teste e controle são:

- ✓ período “T0-T1”: Intervalo entre T0 e T1 é o período que antecede o estudo propriamente dito. Nesse período foram feitos inquéritos amostrais para a avaliação prévia das duas populações.
- ✓ período “T1-T2”: Intervalo entre T1 e T2. No decorrer desse período se deu o momento da aplicação das medidas de controle. Idealmente seria desejável a realização do inquérito sorológico no mesmo momento da aplicação das medidas de controle, porém o tempo necessário para a realização das provas sorológicas e características próprias de cada uma das medidas de controle impediram a efetivação imediata das medidas de controle.
- ✓ período “T2-T3”: última fase do estudo, único período que ocorre inteiramente sob influência das medidas de controle.
- ✓ período “T0-T3” representa o tempo total do estudo (Figura 8).

Figura 8 - Linha do tempo para a participação dos cães dos bairros teste (coleira) e controle (eutanásia)



Fonte: Cortez (2022).

A incidência de reatividade aos testes TR-DPP e ELISA, aplicados em série (TR-DPP + ELISA) foi calculada para todos os períodos em ambos os bairros, considerando-se apenas os casos novos ocorrentes em animais previamente identificados como soronegativos, domiciliados, hígidos e com idade igual ou superior a seis meses e que não fossem domiciliados com animais soropositivos. Quando mais de um caso novo foi detectado em um mesmo domicílio, apenas uma soroconversão foi computada para os cálculos de incidência.

Em todos os inquéritos sorológicos objetivou-se colher amostras da totalidade das populações caninas nos dois bairros. Os animais de ambas as populações foram triados pelos testes diagnósticos oficiais (TR-DPP + ELISA).

A investigação sorológica se deu utilizando-se a estrutura do CCZ de Bauru, SP, seguindo sua logística na elaboração dos inquéritos sorológicos.

4.3 ABORDAGEM DOS ANIMAIS

No bairro teste, os tutores dos animais positivos ao teste TR-DPP, identificados no inquérito sorológico no tempo 1, foram contatados diretamente e as visitas para a aplicação das coleiras repelentes impregnadas com deltametrina 4% (Scalibor®) foram agendadas, momento em que foram comunicadas orientações sobre a doença, transmissão, diagnóstico, prognóstico além da possibilidade de tratamento do cão infectado com miltefosina em clínicas veterinárias.

Ao contato direto, durante a visita ou em qualquer outro momento o tutor do cão sororreagente pode optar pela remoção dos cães para eutanásia, que somente é feita após a confirmação do diagnóstico pelo exame clínico ou pela prova de ELISA.

Os animais encoleirados foram monitorados e acompanhados semestralmente por equipes de pesquisadores que os avaliaram quanto às condições gerais de saúde e bem-estar, assim como a possibilidade de os mesmos continuarem participando do estudo. Também foi verificada, nesse momento, a necessidade do animal passar por avaliação médico veterinária.

Uma avaliação semiológica mais detalhada foi feita nos cães antes da eutanásia, para aqueles cujos proprietários assim desejaram ou nos cães identificados pela equipe como em sofrimento.

Os tutores dos animais participantes foram orientados a entrar em contato com o CCZ de Bauru, SP para relatar perdas de coleiras ou qualquer outra intercorrência.

No bairro controle, os proprietários dos animais positivos aos testes TR-DPP e ELISA, identificados no inquérito sorológico do tempo 1, foram contatados por via telefônica para comunicação do resultado, orientações quanto a doença e agendamento de recolhimento para eutanásia, quando da concordância do tutor responsável, conforme o protocolo do PVCLV.

As amostras de sangue dos cães participantes foram colhidas por meio de punção da veia cefálica, por equipes da Prefeitura Municipal de Bauru compostas por trios de Agentes de Controle de Endemias.

Para as colheitas foram utilizadas seringas descartáveis de 5mL com agulhas hipodérmicas tamanho 25x7. Após a colheita as amostras foram transferidas para tubos de 10 mL para colheita de sangue a vácuo sem anticoagulante.

As amostras foram transportadas em caixas térmicas com gelo reciclável para o laboratório do Centro de Controle de Zoonoses de Bauru (CCZ), onde foram centrifugadas por 10 minutos a 3.000 rpm. O soro obtido após centrifugação foi transferido para microtubos eppendorf de 1,4 mL.

Todas as amostras viáveis foram testadas pela prova TR-DPP e, posteriormente, as dos animais reagentes ao teste de triagem (TR-DPP) foram submetidas ao teste de ELISA. Os testes foram realizados conforme a recomendação do fabricante dos kits. Os cães reagentes ao teste confirmatório (ELISA) foram classificados como casos positivos. No tempo 1, os proprietários dos cães participantes foram informados sobre o experimento e convidados a fazer parte dele.

Decorridos, em média, 214 dias no bairro teste e 225 dias no bairro controle, os animais foram revisitados para colheita de amostra para diagnóstico oficial. Este é o tempo 2, momento no qual os animais de ambas as populações foram retestados pelas mesmas provas sorológicas sendo feita a medida de incidência de reatividade aos testes TR-DPP e ELISA realizados em série.

No tempo 3, em média, 261 dias após T2 no bairro teste e 209 dias no bairro controle, portanto, em torno de 15 meses após o início do estudo (T1), foram feitas novas colheitas de amostra para realização de das provas sorológicas.

Após o inquérito sorológico realizado no tempo 3, foram avaliadas a reatividade aos testes TR-DPP e ELISA das amostras colhidas dos animais dos bairros controle e teste.

4.4 ASPECTOS ÉTICOS

Este estudo foi feito com consulta de base de dados da Secretaria Municipal de Saúde da Prefeitura Municipal de Bauru disponibilizados via portal de transparência sob o registro nº 189.954/2021. As ações realizadas estão previstas no Plano Municipal de Ação para a Intensificação da Vigilância e Controle da LV, apresentado e aprovado pelo Conselho Municipal de Bauru em 21 de outubro de 2019 (Ata da reunião disponível em <https://www2.bauru.sp.gov.br/saude/conselhos.aspx>).

Os procedimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ), sob o número de protocolo 7784301017.

4.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As comparações entre os valores de prevalência, calculados em cada tempo do estudo, foram feitas par a par com teste de qui-quadrado com correção de continuidade. Foram comparados os valores de prevalência entre os cães dos bairros ou períodos diferentes.

Também foram confrontados os valores de taxa de incidência de reatividade para LV considerando-se o tempo de exposição de cada animal (animal-tempo) entre os cães dos bairros controle e teste nos mesmos períodos (avaliação interbairros) e entre os cães de um mesmo bairro, mas amostrados em períodos diferentes (avaliação intrabairros).

Para comparar as incidências interbairros no período completo ("T1-T3"), duas abordagens foram adotadas. Na primeira delas, considerou-se uma coorte fechada, em que apenas os animais identificados soronegativos em T1 e remanescentes em T3 foram incluídos. Na segunda abordagem, participaram tanto os remanescentes em T3 identificados negativos em T1, quanto aqueles que permaneceram somente entre T1 e T2 ou entre T2 e T3, formando coortes abertas. Para as demais comparações interbairros e para as comparações intrabairros, participaram animais remanescentes no tempo considerado e que foram soronegativos no tempo imediatamente anterior, sendo, portanto, todas coortes fechadas.

O tempo de participação de cada animal nas diversas análises, de acordo com suas respectivas evoluções de estados sorológicos está apresentado na Tabela 1.

A taxa de incidência de reatividade para LV em cada coorte, em um dado período foi a relação entre o número total de casos novos e a soma total do tempo de participação de todos os cães participantes daquela coorte, naquele período (animal-tempo).

Tabela 1 - Participação nas coortes e tempo de participação de cada cão, de acordo com a evolução de seus status sorológicos em T1, T2 e T3.

Status ¹ em T1	Status em T2	Status em T3	Coortes que participaram ²	Tempo de participação ³	
				Bairro teste	Bairro controle
0	1	1	Fechadas T2-T3	209	261
			Abertas T1-T3	209	261
0	1	2	Fechadas T2-T3	104	130
			Abertas T1-T3	104	130
1	0	1	Abertas T1-T3	434	475
1	0	2	Abertas T1-T3	217	237
1	1	0	Fechadas T1-T2	225	214
			Abertas T1-T3	225	214
1	1	1	Fechadas T1-T2	225	214
			Fechadas T2-T3	209	261
			Fechadas T1-T3	434	475
			Abertas T1-T3	434	475
1	1	2	Fechadas T1-T2	225	214
			Fechadas T2-T3	104	130
			Fechadas T1-T3	329	344
			Abertas T1-T3	329	344
1	2	0	Fechadas T1-T2	112	107
			Abertas T1-T3	112	107
1	2	1	Fechadas T1-T2	112	107
			Abertas T1-T3	112	107
1	2	2	Fechadas T1-T2	112	107
			Abertas T1-T3	112	107

Fonte: Cortez (2022).

Notas:

¹Status: estado sorodiagnóstico de cada animal nos tempos T1, T2 e T3. (0) sem dado; (1) soronegativo; (2) soropositivo. ² Coortes que foram estudadas entre os tempos T1-T2, T2-T3, T1-T3. Para os tempos T1-T3 há coortes fechadas e abertas. ³Tempo de participação de cada animal na respectiva coorte, em dias (para o animal que soroconverteu entre dois tempos, seu tempo de participação na coorte é descontado da metade do valor do período em que foi diagnosticada a soroconversão).

As diferenças interbairros e intrabairros foram avaliadas pela comparação de duas taxas de incidência para determinação de Risco Relativo (RR) com estimador de

máxima verossimilhança. O cálculo de RR foi realizado empregando-se o modelo de Martin e Austin (1991 e 1996).

Para essas análises foram utilizados os softwares Microsoft Excel 2016®, e Epi Info® Versão 7.2.5, 23 Novembro 2021 (disponível em https://www.cdc.gov/epiinfo/por/pt_pc.html).

Em todas as análises estatísticas os resultados foram considerados significativos quando valor de $p < 0,05$.

5 CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO

O cronograma a seguir resume as atividades que foram conduzidas em ambos os bairros ao longo do tempo, entre o segundo semestre de 2017 e o 2º semestre de 2019 e cujos resultados foram empregados neste estudo.

2º semestre 2017

- ✓ 1ª VISITA (Tempo 0):
 - Inquérito sorológico amostral;

1º semestre 2018

- ✓ 1ª VISITA (Tempo 1):
 - Inquérito sorológico 1;
 - Entrega do termo de consentimento;
 - Aplicação das coleiras ou remoção dos cães para eutanásia.

2º semestre 2018

- ✓ 2ª VISITA (Tempo 2)
 - Inquérito sorológico 2;

1º semestre 2019

- ✓ 3ª VISITA (Tempo 3)
 - Inquérito sorológico 3;

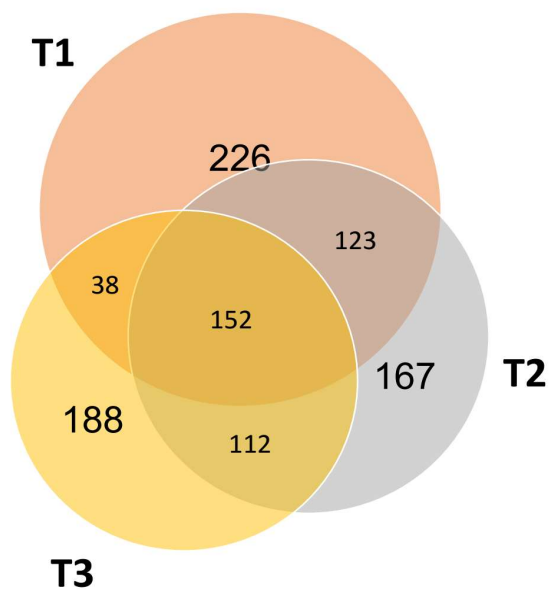
6 RESULTADOS

Em setembro de 2017, no tempo identificado como T0 neste estudo, 140 animais do grupo teste e 143 animais do grupo controle foram testados por TR-DPP + ELISA e as frequências de positividade sorológicas foram, respectivamente, de 8/140 (5,7%, IC 95% [2,7-10,5%]) e 10/143 (7,0%, IC 95% [3,7-12,0%]). Estas frequências não apresentaram diferença estatisticamente significativa.

Estes animais voltaram a ser testados sorologicamente em T1. Neste novo inquérito, dos 133 soronegativos em T0 do grupo controle, 81 foram retestados em T1 e apenas 1 revelado soropositivo. De forma similar, dos 132 soronegativos em T0 no grupo teste, 91 foram retestados e nenhum foi soropositivo.

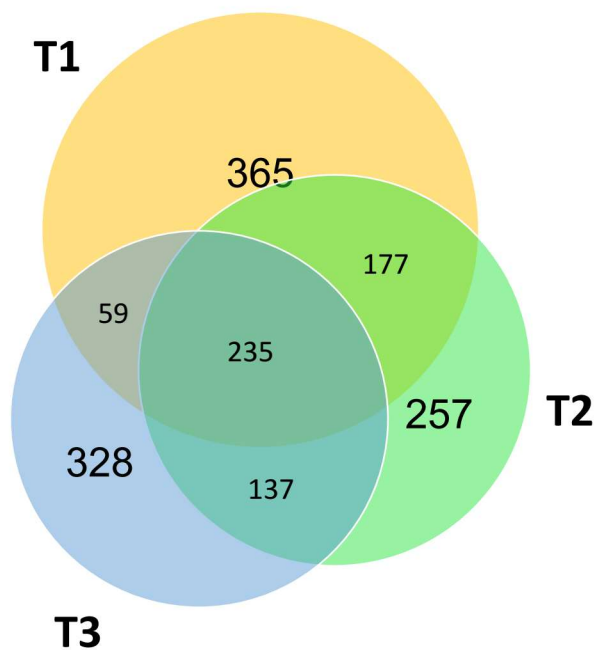
Considerando-se os resultados sorológicos registrados a partir do tempo T1, o início efetivo do estudo, 2564 cães foram visitados e diagnosticados em 3 oportunidades, sendo 1006 animais no bairro teste e 1558 no bairro controle. Do conjunto de cães avaliados em T1, 190 animais foram avaliados em T3, no bairro teste e 294, no bairro controle. Esta relação foi maior quando os intervalos entre as observações foram menores e isso ocorreu nos dois bairros estudados. Entre T1 e T2 puderam ser avaliados 275 no bairro teste e 412 no controle e, entre T2 e T3 foram 264 e 372, respectivamente. Assim, nem todos os animais puderam ser revisitados em todos os períodos, condição está representada nos diagramas de Venn das Figuras 9 e 10.

Figura 9 - Diagrama de Venn representando a participação dos 1006 cães triados no bairro teste nos inquéritos realizados nos tempos 1 a 3.



Fonte – Cortez (2022)

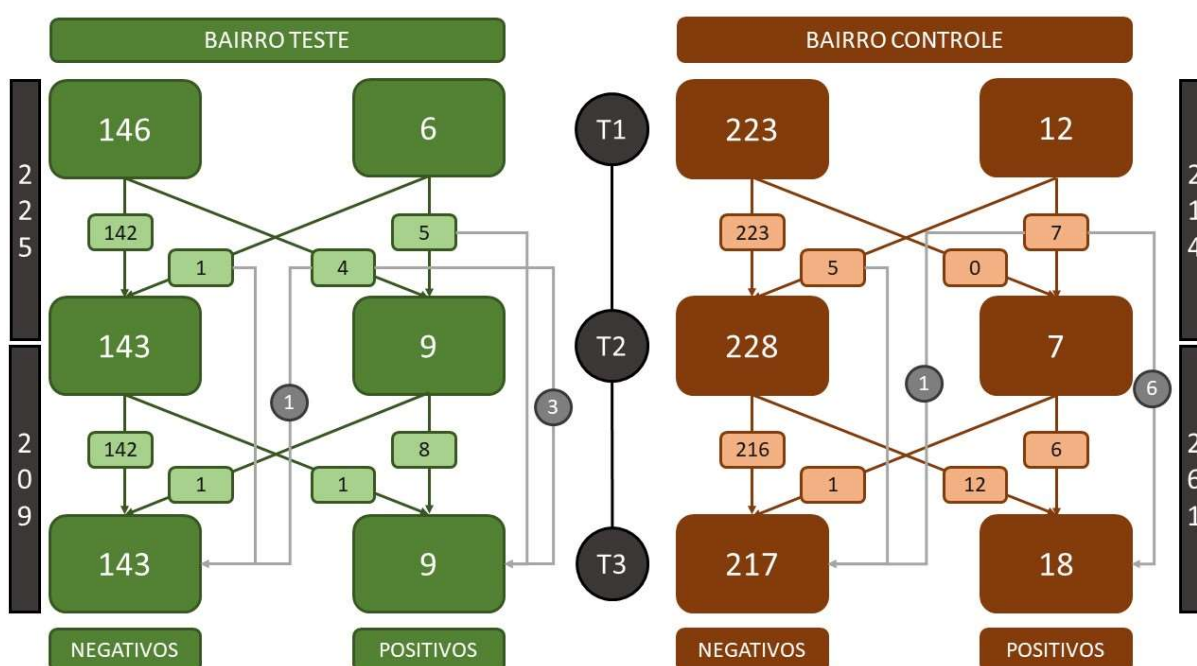
Figura 10 - Diagrama de Venn representando a participação dos 1558 cães triados no bairro controle nos inquéritos realizados nos tempos 1 a 3.



Fonte – Cortez (2022)

O grupo de cães formado pelos animais avaliados em todos os períodos do estudo, a partir de T1 (T1, T2 e T3), contou com 152 animais no bairro teste e 235 no bairro controle. A mudança da condição sorológica de cada animal nos diferentes tempos ocorreu tanto do status negativo para positivo como também no sentido inverso, com cães regredindo do estado positivo para o negativo. Isso ocorreu nos dois bairros avaliados entre T1 e T2 e entre T2 e T3. (Figura 11).

Figura 11 - Mudança de status dos animais do conjunto dos cães avaliados em todos os tempos do estudo, a partir de T1 (T1, T2 e T3)



Fonte – Cortez (2022)

A prevalência da infecção esteve entre 6,5% e 10,5% nas 3 visitas (Tabela 2). Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as frequências nos bairros controle e teste, exceto entre a frequência encontrada no bairro controle no tempo T1 em relação ao bairro teste nos tempos T1 e T3, bem como em relação ao bairro controle no tempo T3.

Tabela 2 - Frequência de ocorrência de reatividade para LVC, detectada por TR-DPP+ELISA em 3 tempos. Valores para limites menor e maior de intervalo de confiança 95% estão entre colchetes.

	Frequência em T1	Frequência em T2	Frequência em T3
Bairro teste	35/539 ^a 6,5% [4,6 - 8,8]	45/554 ^{a b} 8,1% [6,1 - 10,6]	39/490 ^a 8,0% [5,8 - 10,6]
Bairro controle	88/836 ^b 10,5% [8,6 - 12,7]	66/806 ^b 8,2% [6,4 - 10,2]	55/759 ^a 7,2% [5,6 - 9,3]

* Todos os valores de frequência de ocorrência foram comparados par a par. Valores que compartilham letras iguais não tem diferença significativa.

Fonte – Cortez (2022)

As perdas de acompanhamento de cães ocorreram por mudança de endereço, morte, casa fechada (soronegativos perdidos) ou porque o animal não era elegível para o estudo (soronegativos não elegíveis) e variaram, considerando os tempos T0, T1, T2 e T3, de 31,06% a 66,86%, mas foram similares entre os dois bairros (Tabela 3).

Tabela 3 - Perdas de acompanhamento dos cães entre os tempos T0, T1, T2 e T3 para o bairro teste e bairro controle.

Composições de grupos	Bairro teste	Bairro controle
Total soronegativos em T0	132	133
Total soronegativos perdidos entre T0 e T1	41 (31,06%)	52 (39,10%)
Total soronegativos em T0 remanescentes em T1	91 (68,94%)	81 (60,90%)
Total soronegativos em T1	504	748
Total soronegativos perdidos entre T1 e T2	244	360
Total de soronegativos não elegíveis entre T1 e T2	18	29
Total soronegativos em T1 remanescentes em T2	242 (48,02%)	359 (48,00%)
Perdas de acompanhamento entre T1 e T2	262 (51,98%)	398 (52,00%)
Total soronegativos perdidos entre T1 e T3	321	468
Total de soronegativos não elegíveis entre T1 e T3	16	20
Total soronegativos em T1 remanescentes em T3	167 (33,14%)	260 (34,76%)
Perdas de acompanhamento entre T1 e T3	337 (66,86%)	488 (65,24%)
Total soronegativos em T2	509	740
Total soronegativos perdidos entre T2 e T3	262	381
Total de soronegativos não elegíveis entre T2 e T3	13	17
Total soronegativos em T2 remanescentes em T3	234 (45,97%)	342 (46,22%)
Perdas de acompanhamento entre T2 e T3	275 (54,03%)	398 (53,78%)

Fonte – Cortez (2022)

Os valores das taxas de confirmação dos resultados positivos em TR-DPP pelo teste de ELISA nos tempos 0 a 4 variaram de 51% a 74% com médias de 64% e 66% nos bairros teste e controle, respectivamente (Tabela 4).

Tabela 4 - Taxa de confirmação (TC) de resultados positivos em TR-DPP pelo teste de ELISA nos tempos 0 a 3 (T0 a T3) realizados em amostras de cães provenientes dos bairros teste e controle.

	Bairro Teste			Bairro Controle		
	Pos. TR- DPP	Pos. ELISA	TC	Pos. TR-DPP	Pos. ELISA	TC
T0	14	8	57%	18	10	56%
T1	69	35	51%	131	88	67%
T2	62	45	73%	95	66	69%
T3	53	39	74%	90	55	61%
Total	198	129	64%	334	219	66%

Fonte – Cortez (2022)

Do total de 69 cães reagentes em TR-DPP no tempo 1 que, de acordo com o protocolo de controle proposto deveriam receber as coleiras repelentes, 66 foram efetivamente encoleirados, um cão mudou de endereço e outros dois não foram encontrados. Dos 66 cães encoleirados em T1, 39 (59%) morreram no período entre T1 e T3 (14,46 meses). Somente 19 (29%) dos 66 cães encoleirados permaneciam vivos e nos respectivos endereços, sendo que 13 desses cães, no momento da abordagem, estavam usando as coleiras adequadamente e os outros 6 foram encontrados sem coleira. Dessa forma, 68% dos cães avaliados faziam uso correto das coleiras repelentes e 32% não mantiveram adequadamente essa medida de proteção.

Entre T1 e T2, foram eutanasiados, após solicitação dos tutores, 3 dos 35 cães reagentes em T1 (TR-DPP + ELISA), da mesma forma, mais 3 cães foram eutanasiados entre T2 e T3.

No bairro controle, dos 88 cães reagentes (TR-DPP + ELISA) em T1, 34 (38,63%) foram eutanasiados entre T1 e T2 e outros 9 entre T2 e T3, totalizando 43 (48,86%) soropositivos eutanasiados entre T1 e T3.

As comparações entre as incidências de reatividade sorológica interbairros e intrabairros revelaram que o encoleiramento estratégico foi efetivo. O risco de reatividade a LVC para os cães do bairro controle foi 4,183 vezes superior ao risco da população do bairro teste durante o período “T2-T3” (Tabela 5). Considerando-se o período de estudo completo, “T1-T3”, o risco relativo foi 1,769 para a população do bairro controle em relação ao bairro teste. A segunda estimativa não foi estatisticamente significativa, mas os valores de intervalo de confiança da medida mostram uma tendência de risco menor para o bairro teste em relação ao bairro controle. O risco para reatividade sorológica da população do bairro teste durante o primeiro período do estudo foi 3,189 vezes superior ao risco desta mesma população durante o segundo período. Embora esta associação não tenha sido estatisticamente significativa, os valores extremos dos limites de confiança 95% do risco relativo indicaram uma tendência de risco maior para a população do bairro teste durante o período “T1-T2” do que durante o período subsequente.

Por outro lado, não há evidências de diferenças nos riscos para reatividade sorológica entre os bairros teste e controle durante o primeiro período do estudo, tampouco foram diferentes os riscos de reatividade sorológica da população controle nos dois períodos de observação.

Os valores de risco relativo para as diferentes coortes estão sumarizados na Tabela 5.

Tabela 5 - Estimativas de risco relativo (RR) para a reatividade sorológica para LV em populações de cães de um mesmo bairro, avaliadas em períodos subsequentes (avaliação intrabairros) e para populações de bairros diferentes avaliadas em um mesmo período (avaliação interbairros).

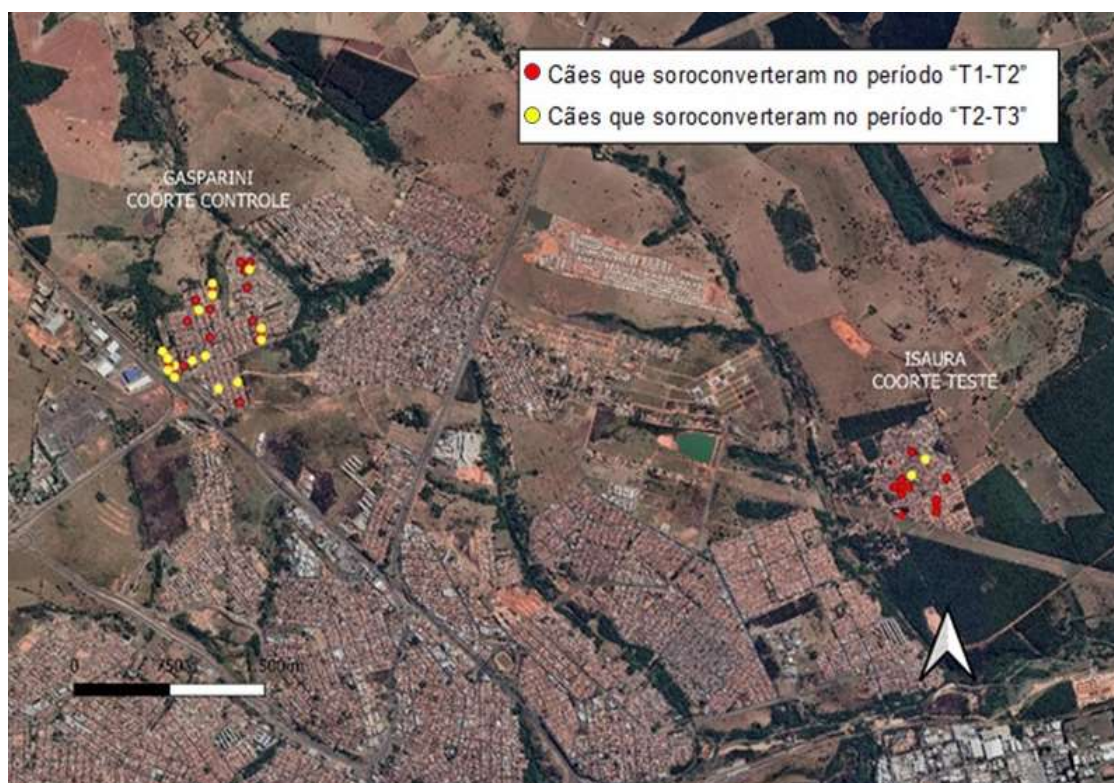
Coortes	Período de avaliação	Total de animais participantes	Total de casos	Cães x dia	RR	Limites IC 95%
Bairro controle	T1-T2	359	12	75542	1.218	0.4799, 3.291
Bairro teste	T1-T2	242	7	53662,5		
Bairro controle	T2-T3	342	15	87304,5	4.183	1.096, 27.03
Bairro teste	T2-T3	234	2	48697		
Bairro controle	T1-T3	260	16	119700	1.909	0.7247, 5.825
Bairro teste	T1-T3	167	5	71393		

Bairro controle	T1-T3	544	31	186514	1.769	0.9051, 3.669
Bairro teste (coorte aberta)	T1-T3	383	11	117207		
Bairro controle	T1-T2	358	12	75328	0.9272	0.4233, 1.997
Bairro controle	T2-T3	342	15	87304,5		
Bairro teste	T1-T2	242	7	53662,5	3.189	0.71, 22.4
Bairro teste	T2-T3	234	2	48697		

Fonte – Cortez (2022)

A distribuição espacial dos animais que soroconverteram nos períodos “T1-T2” e “T2-T3”, nas coortes teste e controle está representada na Figura 12.

Figura 12 - Mapa de Bauru-SP, mostrando cães das coortes teste e controle (Bairros Isaura e Gasparini) que fizeram soroconversão nos períodos “T1-T2” e “T2-T3”.



Fonte – Cortez (2022)

7 DISCUSSÃO

No presente estudo, as incidências de reatividade aos testes TR-DPP + ELISA em dois bairros de Bauru, SP, submetidas a duas medidas distintas de controle da LV foram comparadas. Para a confirmação de caso foi considerado o protocolo oficial previsto no PVCLV com a realização em série dos testes TR-DPP e EIA-ELISA Bio-Mangunhos®, sendo o TR-DPP utilizado como triagem e o ELISA como teste confirmatório, de acordo com a recomendação do Ministério da Saúde (BRASIL, 2011).

A utilização de coleiras impregnadas com inseticidas nos cães soropositivos em inquéritos (“encoleiramento estratégico”), uma medida inédita de controle da LV não baseada na eutanásia, foi testada pela primeira vez neste país.

Os resultados obtidos, no presente estudo, sugerem a possibilidade de incorporação da estratégia avaliada nos programas oficiais de controle da LV.

Este estudo foi inicialmente desenhado como um estudo de coorte fixa, porém, a rotina de trabalho da prefeitura de Bauru não permitiu a execução como o planejado. Os inquéritos sorológicos foram realizados pelo CCZ, dentro de cronograma e logística próprios. Optou-se, então, por abandonar o estudo inicial e trabalhar com os dados gerados pelo CCZ, os quais foram avaliados com duas abordagens diferentes, em coortes abertas e fechadas, conforme descrito no item 4 (Materiais e Métodos).

O cálculo feito para determinar o tamanho das coortes fixas, utilizou o programa Epi-Info v6.01. Considerou-se a incidência da doença nos animais da coorte controle como sendo igual a 8% (Cortez, dados pessoais) e uma proteção esperada da coleira de 72,3% (FOGLIA MANZILLO et al., 2006), ou seja, prevendo uma incidência de aproximadamente 2,2% entre os indivíduos da coorte teste. Como o estudo proposto é inédito, a estimativa de proteção da coleira foi feita com base em seu uso convencional. Considerando-se confiança de 95% e um poder de 80% para o estudo, estimou-se o tamanho dos grupos em 258 indivíduos acompanhados pelo período de um ano.

Inicialmente previa-se a análise dos dados com base na reatividade das amostras avaliada apenas pelo TR-DPP, por este teste apresentar maior sensibilidade diagnóstica quando comparado à combinação TR-DPP + ELISA. Entretanto a opção final foi por empregar o protocolo diagnóstico como preconizado no PVCLV, porque além de TR-DPP + ELISA fazer parte do protocolo oficial realizado no Brasil, o TR-

DPP é suscetível a certo grau de subjetividade na interpretação. Apesar dos testes diagnósticos das amostras deste estudo terem sido executados pela mesma equipe e nas mesmas condições, a variação da taxa de confirmação do TR-DPP registrada neste trabalho, de 51% a 74% (média de 65%) foi de magnitude importante. Assim, o emprego de um teste confirmatório é recomendado para reduzir a ocorrência de falsos positivos, devido à possíveis interpretações conflitantes na interpretação do teste de triagem. Esses resultados estão de acordo com os relatados por Bertollo e Tolezano (2018) que encontraram uma taxa de concordância de 58,5% entre os testes TR-DPP e ELISA. Resultados semelhantes também foram relatados por Lopes et al. (2017) que observaram que 36,78% dos 87 cães positivos em TR-DPP não foram confirmados por ELISA em estudo que avaliou 974 cães.

Outras técnicas de melhor acurácia, tanto moleculares, sorológicas ou parasitológicas, poderiam ter sido utilizadas neste estudo, porém, esta investigação foi realizada por meio de inquéritos conduzidos pelo CCZ do município de Bauru, SP, os quais utilizam os testes preconizados pelo PVCLV (TR-DPP + ELISA). O estudo, portanto, não afere a proteção contra a doença, mas em relação à reatividade sorológica que é uma medida indireta da condição de infectado.

A investigação pretendia amostrar a totalidade das populações caninas dos dois bairros, porém, quando da execução de um inquérito sorológico censitário, nem todos os animais podem ser avaliados. Algumas colheitas de amostras deixam de ser realizadas e isso ocorre por diversos motivos, como a recusa do tutor, a impossibilidade de colheita (cão feroz, por exemplo) e a presença de casas fechadas. Dessa forma, alguns animais examinados em um inquérito não puderam ser reexaminados, principalmente por não terem sido localizados nos respectivos endereços de seus tutores cujas casas se encontravam fechadas. Embora todas as casas fechadas tivessem sido revisitadas por pelo menos duas vezes, em dias e horários alternativos, seguindo as recomendações do PVCLV do Ministério da Saúde.

Em um estudo de coorte para avaliar efetividade de diversas medidas de controle para a LV em cães realizado no município de Panorama, estado de São Paulo, Lopes et al. (2017) registraram perdas de um número expressivo de animais durante o acompanhamento por um ano. De 300 animais selecionados para formar as coortes, 94 foram perdidos por razões diversas em um período de 1 ano, o que representa uma perda de cerca de 30%. Com vistas a suprir esta perda, as coortes

previstas para o experimento foram aumentadas com base nas perdas estimadas por Lopes et al. (2017), fazendo então uma previsão de 340 animais por coorte.

Como os cálculos amostrais iniciais indicaram que o número de animais necessários para este estudo de coorte teria de ser de pelo menos 258 cães, e o número de cães que perduraram de T1 a T3 de ambos os bairros foi inferior a este valor, optou-se por abandonar a pesquisa com a coorte inicialmente formulada e usar os dados totais registrados pelo CCZ-Bauru, que, embora tenham sido registradas perdas de acompanhamento expressivas entre T1, T2 e T3, mesmo assim o número total de amostras disponíveis para a análise revelou-se até superior ao que foi inicialmente projetado.

Como este estudo apresenta uma diferença razoavelmente importante de tempo de exposição ao risco entre os diferentes bairros, os resultados foram analisados considerando o tempo de participação de cada animal usando a taxa de incidência, conforme o descrito por Martin e Austin (1991 e 1996).

Silva et al. (2012) identificaram chance cinco vezes maior (OR = 5,19; 95% IC = 3,20-8,42) de ter pelo menos um soropositivo em domicílios com histórico de casos caninos nos últimos 12 meses. Assim, conforme descrito no item Materiais e Métodos, para o cálculo da incidência foram excluídos animais domiciliados com outros soropositivos e quando mais de um caso novo foi detectado em um mesmo domicílio, apenas uma soroconversão foi computada para os cálculos de incidência.

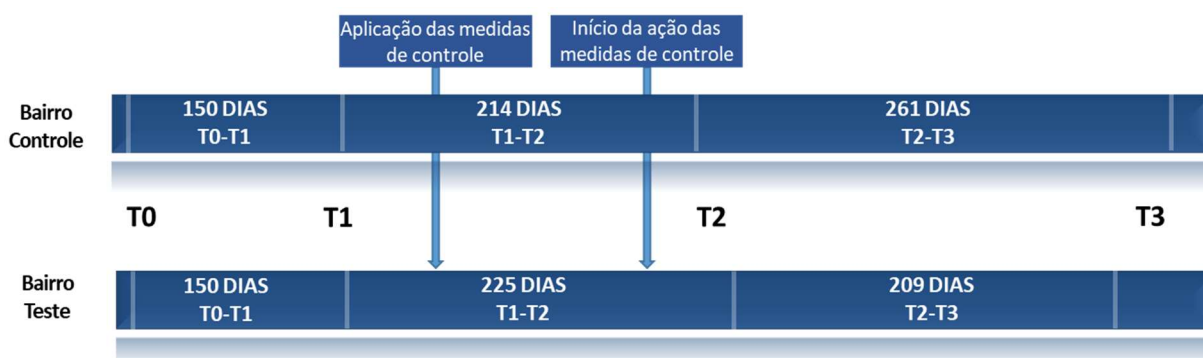
Os resultados de incidência obtidos no período “T1-T2”, tanto na população teste quanto controle, sofreram influência do período anterior ao estabelecimento das medidas de controle, principalmente em decorrência dos 3 meses de período pré-patente médio da LV canina (QUINNELL et al., 1997), intervalo semelhante foi observado por Courtenay et al. (2002) de 105 dias entre a infecção e a soroconversão.

Considerando ainda que o efeito de redução de incidência não é imediato, a soroconversão observada no período “T1-T2” pode estar relacionada com infecção anterior ao estabelecimento das medidas de controle. O tempo decorrido entre a colheita do material e a eutanásia do cão reagente no bairro controle, o período de 3 semanas para o melhor efeito repelente da coleira Scalibor e o intervalo de tempo entre a colheita das amostras dos cães e a incorporação das coleiras no bairro teste, além do período de incubação extrínseca da *L. (L.) infantum* no *Lu. longipalpis* de 6-7 dias (PIMENTA et al., 2011), também podem interferir. Dessa forma, o período “T1-

T2” não deve ser considerado como período sob efeito das medidas de proteção, porque estas foram adotadas durante o período.

Portanto, para comparação dos resultados de incidência interbairros, ou intrabairros nos períodos “T1-T2” e “T2-T3”, em cada uma das populações, a análise do período “T2-T3” foi considerado como período posterior às medidas. Assim, o tempo 2 foi definido como ponto de corte entre os períodos antes e após o estabelecimento das medidas de controle (Figura 13).

Figura 13 - Linha do tempo para a participação dos animais de cada bairro, tempos de aplicação e início da ação das medidas de controle.



Fonte: Cortez (2022)

Todas as análises realizadas apontam fortes evidências de que o período “T2-T3” no bairro teste teve menor risco de transmissão. A estimativa de RR para o bairro controle em relação a bairro teste indica uma diferença estatisticamente significativa em favor da estratégia de encoleiramento.

Em relação a avaliação intrabairros, a comparação dos valores de RR estimados para o período anterior às medidas de controle (“T1-T2”), em relação ao período posterior às medidas (“T2-T3”), indica a efetividade da estratégia testada.

Na comparação entre estratégias teste e controle, considerando a questão humanitária, a equivalência das duas coortes já indicaria o sucesso do novo método de controle da LV, uma vez que este não preconiza a eutanásia do cão classificado como reagente nas provas sorológicas oficiais, como ocorre no modelo de controle vigente. E, em nenhuma das análises feitas, a estratégia controle teve desempenho superior à estudada.

Assim como Foglia Manzillo et al. (2006), diversos estudos demonstraram a redução da transmissão canina com a utilização dos colares impregnados com inseticida, aplicados nos cães soronegativos, como medida adicional às estratégias de controle atuais. Lopes et al. (2018) indicaram que o encoleiramento dos cães soronegativos foi efetivo (eficácia de 57,7%), assim como Camargo-Neves et al., (2021) (eficácia de 66%). Por meio de análise multivariada, Alves et al. (2020) calcularam, em um estudo do qual participaram 20.477 cães, um risco de infecção de cães 52% menor na área de intervenção, quando comparada com a área controle (OR=0,48, IC 95% [0,39-0,59]).

A eutanásia dos cães reagentes, ainda presente nas diversas pesquisas realizadas utilizando o encoleiramento de cães soronegativos, estratégia que tem sido apontada como efetiva no controle da LV, pode também ser substituída pelo encoleiramento dos cães sororreagentes, conforme apontam os resultados deste estudo.

Esses resultados indicam ainda que o encoleiramento de todos os cães de uma área de transmissão, independentemente da execução prévia de inquérito sorológico, poderia ser uma estratégia custo-efetiva, uma vez que, de acordo com os resultados obtidos por Assis et al. (2020), os maiores custos da estratégia convencional de controle da LV estão relacionados com o diagnóstico e procedimentos envolvidos na eutanásia dos cães reagentes. Assim, sugerimos que estudos adicionais sejam elaborados nesse sentido.

Conforme o previsto, observamos uma alta adesão da população à medida de controle proposta no estudo, por esta ser uma medida muito mais simpática e humanitária. No bairro teste, a adesão à medida foi imediata e de 100%. Já na coorte controle, em decorrência da baixa aceitação da eutanásia, pelos tutores, observamos uma adesão inicial à medida de controle próxima de 40%.

A redução do intervalo entre o inquérito sorológico e o estabelecimento da medida de controle observada na coorte teste, apesar do período de 3 semanas para o melhor efeito repelente da coleira impregnada com inseticida, pode ser também considerada uma vantagem, pois os longos intervalos são apontados como uma das causas de falha das estratégias de controle (COURTENAY et al., 2002).

A menor quantidade de coleiras utilizadas no encoleiramento estratégico que prevê um número de coleiras proporcional à prevalência da LVC na área trabalhada (em torno de 10% em Bauru, SP), quando comparada com o encoleiramento

tradicional, associada à taxa de mortalidade (59% no bairro teste) e às perdas por mudança, doação ou outro motivo (14%), no período do estudo (15 meses) verificadas entre os cães positivos, implicam na redução da quantidade de coleiras a serem substituídas e, conseqüentemente nos custos da estratégia.

Assim, a depender do acesso a diagnóstico laboratorial ou da disponibilidade de recursos financeiros e logísticos, a medida aqui chamada de “encoleiramento estratégico” poderia ser aplicada nos diferentes municípios brasileiros de três formas distintas:

1. Isoladamente, como o descrito no presente estudo;
2. Como medida auxiliar à estratégia de encoleiramento dos cães não reagentes, com o encoleiramento dos cães soropositivos cujos tutores recusarem a eutanásia;
3. Associada ao encoleiramento dos suscetíveis, com ou sem inquérito prévio (encoleiramento da totalidade dos cães em determinada área de transmissão).

8 CONCLUSÕES

- O encoleiramento estratégico de cães soropositivos, proposto como alternativa à eutanásia do cão sororreagente nos inquéritos caninos, demonstrou ser uma medida efetiva.
- Este estudo forneceu subsídios para a incorporação, nos programas oficiais brasileiros, da estratégia de utilização de coleiras impregnadas com deltametrina em cães sororreagentes nos inquéritos caninos (encoleiramento estratégico), como medida adicional de controle da LV.

9 REFERÊNCIAS

ALVES, E.B.; FIGUEIREDO, F.B.; ROCHA, M.F.; CASTRO, M.C.; WERNECK, G.L. Effectiveness of insecticide-impregnated collars for the control of canine visceral leishmaniasis. **Preventive Veterinary Medicine**. v. 182, p. 105104, 2020.

ASSIS, T.M.; AZEREDO-DA-SILVA, A.L.F.; COTA, G.; ROCHA, M.F.; WERNECK G.L. Cost-effectiveness of a canine visceral leishmaniasis control program in Brazil based on insecticide-impregnated collars. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 53, p. e20200680, 2020.

BAURU, 2013. Prefeitura do Município de Bauru. Secretaria Municipal de Saúde. Departamento de Saúde Coletiva. Divisão de Vigilância Epidemiológica. **Leishmaniose Visceral Americana, atualização epidemiológica 2013**: Informativo. Disponível em: https://www2.bauru.sp.gov.br/arquivos/arquivos_site/sec_saude/dsc/Vigil%C3%A2ncia_Epidemiol%C3%B3gica/Leishmaniose_Visceral_-_Atualiza%C3%A7%C3%A3o_epidemiol%C3%B3gica.pdf
Acesso em: 12 ago. 2019.

BERTOLLO, D.M.B.; TOLEZANO, J.E. Análise comparativa entre os diferentes protocolos utilizados para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, v. 77, p. 1-9, 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 1. ed., – Brasília: Ministério da Saúde, 120 p., 2014.

BRASIL - Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças transmissíveis. **Nota Técnica conjunta nº 01/2011 CGDT-CGLAB/DEVIT/SVS/MS**. Esclarecimentos sobre substituição do protocolo diagnóstico da leishmaniose visceral canina LVC. Brasília, DF, 29 dez. 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Coordenação de Fiscalização de Produtos Veterinários. **Nota Técnica nº 11/2016/CPV/DFIP/SDA/GM/MAPA**. Brasília, DF, 01 set. 2016. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/produtos-veterinarios/legislacao-1/notas-tecnicas/nota-tecnica-no-11-2016-cpv-dfip-sda-gm-mapa-de-1-09-2016.pdf/view>>. Acesso em: 12 maio 2022.

BRASIL. Portaria interministerial nº 1.426, de 11 de julho de 2008. Proíbe o tratamento de leishmaniose visceral canina com produtos de uso humano ou não registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2008. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2008/pri1426_11_07_2008.html#:~:text=Pro%C3%ADbe%20o%20tratamento%20de%20leishmaniose,da%20Agricultura%2C%20Pecu%C3%A1ria%20e%20Abastecimento.&text=Considerando%20que%20n%C3%A3o%20existem%20medidas,Art.>

Acesso em: 12 maio 2022.

BRASIL., Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde. **Guia de Vigilância em Saúde** [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde. – 5. ed. rev. e atual. – Brasília: Ministério da Saúde, 2022. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_saude_5ed_rev_atual.pdf>

CAMARGO-NEVES, V. L. F. **Aspectos epidemiológicos e avaliação das medidas de controle da leishmaniose visceral americana no estado de São Paulo, Brasil**. 2004. 225 p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004a.

CAMARGO-NEVES, V. L. F. Leishmaniose visceral americana: doença emergente no estado de São Paulo. **ComCiência** [Internet], v. 66, p. 1-4, 2005. Disponível em: <<http://www.comciencia.br/reportagens/2005/06/17.shtml>> Acesso em: 04 dez. 2021.

CAMARGO-NEVES, V. L. F.; RODAS, L. A. C.; Pauliquévis Júnior, C. Utilização de coleiras impregnadas com deltametrina para o controle da Leishmaniose Visceral Americana no Estado de São Paulo. Resultados Preliminares. **Boletim Epidemiológico Paulista**. v. 12, p. 7-13, 2004b.

CAMARGO-NEVES, V. L. F., CALEMES, E.B.; RODAS, L. A. C.; GALVIS-OVALLOS, F.; SILVA, L.J. Control of Canine Visceral Leishmaniasis: A Success Case Based on Deltamethrin 4% Collars. **Epidemiologia**. v. 2, n. 4, p. 502-518, 2021.

CARDIM, M.F.M.; RODAS, L.A.C.; DIBO, M.R.; GUIRADO, M.M.; OLIVEIRA, A.M.; CHIARAVALLOTI, F.N. Introdução e expansão da Leishmaniose visceral americana em humanos no estado de São Paulo, 1999-2011. **Revista de Saúde Pública**. v. 47, n. 4, p. 691-700, 2013.

COHAB-BAURU. Cohab-Bauru, c2008. História da Cohab. Disponível em: <www.cohabbauru.com.br> Acesso em: 25 maio 2022.

COSTA, C. H. N.; PETERS, N. C.; MARUYAMA, S. R.; BRITO, E. C. DE; SANTOS, I. K. F. D. M. Vaccines for the leishmaniasis: proposals for a research agenda. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 3, p. e943, 2011.

COSTA, D.C.C.; CODEÇO, C.T.; BERMUDI, P.M.M; RODAS, LAC.; NUNES, C.M.; HIRAMOTO, R.M.; TOLEZANO, J.E.; CHIARAVALLI, F.N. Controle da leishmaniose visceral canina por eutanásia: estimativa de efeito baseado em inquérito e modelagem matemática. **Cadernos de Saúde Pública**. v. 36, n. 2, 2020.

COURTENAY, O.; QUINNELL, R.J.; GARCEZ, L.M.; SHAW, J.J.; DYE, C. Infectiousness in a cohort of Brazilian dogs: why culling fails to control visceral leishmaniasis in areas of high transmission. **Journal of infectious diseases**, v. 186, n. 9, p. 1314-1320, 2002.

COURTENAY, O.; BAZMANI, A.; PARVIZI, P.; READY, P.D.; CAMERON, M.M. Insecticide-impregnated dog collars reduce infantile clinical visceral leishmaniasis under operational conditions in NW Iran: A community-wide cluster randomised trial. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 3, 2019.

COX, D.; AND HINKLEY, D. **Theoretical Statistics**. Chapman and Hall, London, 1974.

CUPOLILLO, E.; BOITÉ, M.C.; PORROZZI, R. Considerações sobre a Taxonomia do Gênero *Leishmania*. In: CONCEIÇÃO-SILVA, F., and ALVES, C. R., comps. **Leishmanioses do continente americano** [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, p. 39-51, 2014.

DANTAS-TORRES, F; BRANDÃO-FILHO, S.P. Visceral leishmaniasis in Brazil: revisiting paradigms of epidemiology and control. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 48, n. 3, p. 151-156, 2006.

DAVID, J.R.; STAMM, L.M.; BEZERRA, H.S.; SOUZA, R.N.; KILLICK-KENDRICK, R.; LIMA, J.W.O. Deltamethrin-impregnated dog collars have a potent anti-feeding and insecticidal effect on *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia migonei*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, p. 839-847, 2001.

DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Disease**, v. 27. p. 305-318, 2004.

FOGLIA MANZILLO, V.; OLIVA, G.; PAGANO, A; MANNA, L.; MAROLI M.; GRADONI, L. Deltamethrin-impregnated collars for the control of canine leishmaniasis: Evaluation of the protective effect and influence on the clinical outcome of Leishmania infection in kennelled stray dogs. **Veterinary Parasitology**. v. 142, p. 142-145, 2006.

GALVIS-OVALLOS, F.; UETA, A.E.; MARQUES, G.O.; SARMENTO, A.M.C.; ARAUJO, G.; SANDOVAL, C.; TOMOKANE, T.Y.; DA MATTA, V.L.R.; LAURENTI, M.D.; GALATI, E.A.B. Detection of *Pintomyia fischeri* (Diptera: Psychodidae) With *Leishmania infantum* (Trypanosomatida: Trypanosomatidae) Promastigotes in a Focus of Visceral Leishmaniasis in Brazil. **Journal of Medical Entomology**. v. 58, n. 2, p. 830-836, 2021.

GAVGANI, A.S.M.; HODJATI, M.H.; MOHITE, H.; DAVIES, C.R. Effect of insecticide-impregnated dog collars on incidence of zoonotic visceral leishmaniasis in Iranian children: a matched cluster randomized trial. **The Lancet**, v. 360, n. 3, p. 374-379, 2002.

GONTIJO, C.M.F. & MELO, M.N. Leishmaniose Visceral no Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, n. 3, p. 338-349, 2004.

GREENE, C. E. **Infectious Diseases of the dog and cat**. 3 ed. Saint Louis: Saunders Elsevier, p. 685-698, 2006.

HIRAMOTO R.M. Classificação epidemiológica dos municípios do Estado de São Paulo segundo o Programa de Vigilância e Controle de Leishmaniose Visceral. **Boletim Epidemiológico Paulista**, v. 182, n. 16, p. 11-35, 2019.

IARUSSI, F.; PARADIES, P.; FOGLIA MANZILLO, V.; GIZZARELLI, M.; CARATTOZZOLO, M.F.; NAVARRO, C.; GRECO, B.; RUBINO, G.T.R.; OLIVA, G.; SASANELLI, M. Comparison of two dosing regimens of miltefosine, both in combination with allopurinol, on clinical and parasitological findings of dogs with leishmaniosis: A Pilot Study. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 14, n. 7, 2020. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2020.577395>. Acesso em: 10 set. 2021.

IBGE. © 2017 IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, v.4, 6.29, 2017. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/sp/bauru/panorama>> Acesso em 02 nov. 2022.

KAZIMOTO, T. A.; AMORA, S. S. A.; FIGUEIREDO, F. B. et al. Impact of 4% deltamethrin-impregnated dog collars on the prevalence and incidence of canine visceral leishmaniasis. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v.18, n. 7, p. 356-363, 2018.

KILLICK-KENDRICK, R.; KILLICK-KENDRICK, M.; FOCHEUX, C.; DEREURE, J.; PUECH, M.P.; CADIERGUES, M.C. Protection of dogs from bites of phlebotominae sandflies by deltamethrin collars for control of canine leishmaniasis. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 11, n. 2, p. 105-111, 1997.

LAINSON, R.; SHAW, J.J. New World Leishmaniasis - The Neotropical Leishmania Species. In: Cox, F.E.; Kreier, J.P.; Wakelin, D. (Ed.) Topley & Wilson's **Microbiology and microbial infections**. Parasitology, 9th ed., v. 5, p. 241-266, Arnold London, 1998.

LOPES, E. G.; SEVÁ, A. P.; FERREIRA, F.; NUNES, C. M.; KEID, L. B.; HIRAMOTO, R. M.; FERREIRA, H. L.; OLIVEIRA, T. M. F. S.; OVALLOS, F. G.; GALATI, E. A. B.; VILLEGAS, T. J.; BORTOLETTO, D. V.; VALADAS, S. Y. O. B.; SOARES, R. M. Vaccine effectiveness and use of collar impregnated with insecticide for reducing incidence of Leishmania infection in dogs in an endemic region for visceral leishmaniasis, in Brazil. **Epidemiology and Infection**, v. 146, n. 3, p. 401-406, 2018.

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

MAGALHÃES-JUNIOR, J.T.; MOTA, T.F.; PORFIRIO-PASSOS, G.; LARANJEIRA, D.F.; FRANKE, C.R.; BARROUIN-MELO, S.M. Xenodiagnosis on dogs with visceral leishmaniasis: Canine and sand fly aspects related to the parasite transmission. **Veterinary Parasitology**, v. 223, n. 15, p. 120-126, 2016.

MARCONDES, C. B. **Entomologia médica e veterinária**. São Paulo: Atheneu, p. 13-30, 2001.

MARCONDES, M. Current status and management of canine leishmaniasis in Latin America. **Research in Veterinary Science**, v. 123, p. 261-272, 2019.

MARCONDES, M.; ROSSI, C.N. Leishmaniose visceral no Brasil. **Revista Brasileira de Pesquisa Veterinária e Zootecnia**, v. 50, n. 5, p. 341-352, 2013.

MAROLI, M.; MIZZON, V.; SIRAGUSA, C.; D'OORAZI, A.; GRADONI, L. Evidence for an impact on the incidence of canine leishmaniasis by the mass use of deltamethrin-impregnated dog collars in southern Italy. **Medical and veterinary entomology**, v. 15, n 4, p. 358-363, 2001.

MARTIN, D.O.; AUSTIN, H. An Efficient Program for Computing Conditional Maximum Likelihoods Estimates and Exact Confidence Limits for a Common Odds Ratio. **Epidemiology**, v. 2, n. 5, p. 359-362, 1991.

MARTIN, D.O.; AUSTIN, H. Exact Estimates for a Rate Ratio. **Epidemiology**, v. 7, n. 1, p. 29-33, 1996.

MATSUMOTO, P.S.S.; HIRAMOTO, R.M.; PEREIRA, V.B.R.; CAMPRIGHER, V.M.; TANIGUCHI, H.H.; DE RAEFFRAY BARBOSA, J.; CORTEZ, L.R.P.B.; FONSECA, E.S.; GUIMARÃES, R.B.; TOLEZANO, J.E. Impact of the dog population and household environment for the maintenance of natural foci of *Leishmania infantum* transmission to human and animal hosts in endemic areas for visceral leishmaniasis in São Paulo state, Brazil. **PLoS ONE**, v. 16, n. 8, e0256534, 2021.

MATSUMOTO, P., TANIGUCHI, H. H., PEREIRA, V., HIRAMOTO, R. M., SEVIERO RAMPAZZI, K. L., DE RAEFFRAY BARBOSA, J. E., PUCI NETO, R. A., CAMPRIGHER, V. M., DE BARROS CORTEZ, L., RAHAMAN, K. R., NOVAK, M., & TOLEZANO, J. E. (2022). Efficacies of insecticide dog collars against visceral leishmaniasis in low and high-income areas and the effects for non-collared neighbor dogs. **Acta tropica**, 235, 106626. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica>, 2022.

MAURICIO, I.L.; HOWARD, M.K.; STOTHARD, J.R.; MILES, M.A. Genomic diversity in the *Leishmania donovani* complex. **Parasitology**, v. 119, n. 3, p. 237-246, 1999.

MONTEIRO, E.M.; FRANÇA DA SILVA, J.C.; COSTA, R.T.; COSTA, D.C.; BARATA, R.A.; GEORGE, E.V.P.; MACHADO-COELHO, L.L.; ROCHA, M.F.; FORTES-DIAS, C.L.; DIAS, E.S. Leishmaniose visceral: estudo de flebotomíneos e infecção canina em Montes Claros, Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** [online]. v. 38, n. 2, p. 147-152, 2005.

MORGENSTERN, H; KLEINBAUM, D.G.; KUPPER, L.L. Measures of Disease Incidence Used in Epidemiologic Research. **International Journal of Epidemiology**, v. 9, n. 1, p. 97-104, 1980.

NOGUEIRA, F. S.; AVINO, V. C.; GALVIS-OVALLOS, F.; PEREIRA-CHIOCCOLA, V. L.; MOREIRA, M. A. B.; ROMARIZ, A. P. P. L.; et al. Use of miltefosine to treat canine visceral leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* in Brazil. **Parasit Vectors**, 12, 79 (2019). <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3323-0v.12>, 2019.

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD/ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OPS/OMS). **Plan de acción para fortalecer la vigilancia y control de las leishmaniasis en las américas**, 2017. Disponível em: <<https://iris.paho.org/handle/10665.2/34144>>. Acesso em: 12 maio 2022.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE (OPAS). **Leishmanioses: Informe epidemiológico nas Américas**, Washington DC, n. 9, 2020. Disponível em: <<https://iris.paho.org/handle/10665.2/53091>>. Acesso em: 9 jan. 2021.

ORTIZ, R.C.; ANVERSA, L. Epidemiologia da leishmaniose visceral em Bauru, São Paulo, no período de 2004 a 2012: um estudo descritivo. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 24, n. 1, p. 97-104, 2015.

PIMENTA, P.F.P.; FREITAS, V.C.; SECUNDINO, N.F.C. Development of *Leishmania* (*Leishmania*) *infantum* chagasi in its natural sandfly vector *Lutzomyia longipalpis*. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 86, n. 4, p. 606-612, 2012.

POZIO, E.; GRADONI, L.; BETTINI, S.; GRAMICCIA, M. Leishmaniasis in Tuscany (Italy): VI. Canine leishmaniasis in the focus of Monte Argentario (Grosseto). **Acta Trop.**, v. 38, n.4, p. 383-393, 1981.

QUINNELL, R.J.; COURTENAY, O.; GARCEZ L.; DYE, C. The epidemiology of canine leishmaniasis: transmission rates estimated from a cohort study in Amazonian Brazil. **Parasitology**, v. 115, n. 2, p. 143-156, 1997.

RANDOLPH, S.E. To what has climate change contributed to the recent epidemiology of tick-borne diseases? **Veterinary Parasitology**, v. 167, p. 92-94, 2010.

RANGEL, O.; OLIVEIRA, S.S.; HIRAMOTO, R.M.; et al. Classificação epidemiológica dos municípios do Estado de São Paulo segundo o Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral, 2019. **Boletim Epidemiológico Paulista**, BEPA, v. 17, p. 13-34, 2020

REITHINGER, R.; COLEMAN, P.G.; ALEXANDER, B.; VIEIRA, E.P.; ASSIS, G.; DAVIES, C.R. Are insecticide-impregnated dog collars a feasible alternative to dog

culling as a strategy for controlling canine visceral leishmaniasis in Brazil? **International Journal for Parasitology**, v. 34, n. 1, p. 55-62, 2004.

RIBEIRO, V. Leishmaniose: sorologia vs imunização. Posso tratar cães? In: Congresso Paulista de Clínicos Veterinários de Pequenos Animais, 5. 2005, São Paulo. **Anais...**, São Paulo: ANCLIVEPA, 2005.

SÃO PAULO (Estado). Secretaria de Estado de Saúde, Superintendência de Controle de Endemias - SUCEN e Coordenadoria de Controle de Doenças – CDC. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral Americana do Estado de São Paulo.**, São Paulo, SES, 2006. 160p.

SEVÁ, A.D.; MAO, L.; GALVIS-OVALLOS, F.; TUCKER LIMA, J.M.; VALLE, D. Risk analysis and prediction of visceral leishmaniasis dispersion in São Paulo State. Brazil. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, 11(2): e0005353, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005353>>

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

SILVA, J. P.; WERNECK, G.L.; MACEDO, E.C.; DE CARVALHO, H.; PIRES E CRUZ, M.S. Factors associated with *Leishmania chagasi* infection in domestic dogs from Teresina, State of Piauí, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, n. 4, p. 480-484, 2012.

SILVA, R.; ANDRADE, A.; QUINT, B.; RAFFOUL, G.; WERNECK, G.; RANGEL, E.; ROMERO, G. Effectiveness of dog collars impregnated with 4% deltamethrin in controlling visceral leishmaniasis in *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) populations. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [online]. 2018, v. 113, n. 5, e170377. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/0074-02760170377>>. Epub 26 mar. 2018. ISSN 1678-8060. <https://doi.org/10.1590/0074-02760170377>.

SILVA, S.C.P.F.E.; GOMES, L.B.; CARVALHO, P.C.F.B.; SANTOS, A.G.R.C.; BORGES, L.F.N.M.; OLIVEIRA, C.S.F.; MORAIS, M.H.F.; PEREIRA, P.L.L.; AMARAL HADDAD, J.P.; SOARES, D.F.M. Effectiveness of the mass use of deltamethrin-impregnated dog collars for preventing transmission of canine leishmaniasis by *Lutzomyia* spp.: A cluster randomized controlled trial. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 171, 2019. 1;171:104770. doi: 10.1016/j.prevetmed.2019.104770. Epub 2019 set. 4. PMID: 31536935.

SIMÃO, J. C. **Espectro clínico e prognóstico de pacientes com leishmaniose visceral internados no Hospital Estadual Bauru (Bauru - SP)**. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu. Botucatu, 2018.

SOUZA, V.A.F.; CORTEZ, L.R.P.B.; DIAS, R.A.; AMAKU, M.; FERREIRA NETO, J. S.; KURODA, R.B.S.; FERREIRA, F. Space-time cluster analysis of American visceral leishmaniasis in Bauru, São Paulo State, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 28, n. 10, p. 1949-1964, 2012.

TOLEZANO, J.E.; MATSUMOTO, P.S.S.; BERTOLLO, D.M.B.; PIERRE, M.K., BARBOSA, J.E.R. Avaliação da efetividade do uso de coleiras impregnadas com deltametrina no controle da leishmaniose visceral no município de Votuporanga, Estado de São Paulo, Brasil, 2014-2016. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, v. 77, p. 1-10, 2018.

WERNECK, G.L. Forum: Geographic spread and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. Introduction **Cadernos Saúde Pública**. V. 24, p. 2937-2940, 2008.

WERNECK, G.L. Expansão geográfica da leishmaniose visceral no Brasil. **Cadernos Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 4, p. 644-645, 2010.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Sustaining the drive to overcome the global impact of neglected tropical diseases. **Second WHO report on neglected tropical diseases**, v.3.9, p. 67-71, 2013.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Leishmaniasis**, 2021. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>> Acessado em 05/12/2021.

ZUBEN, A.P.B.; DONALISIO, M.R. Dificuldades na execução das diretrizes do Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral em grandes municípios brasileiros. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 32, n. 6, p. e00087415, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/0102-311X00087415>>. Epub 01 jun. 2016. ISSN 1678-4464. <https://doi.org/10.1590/0102-311X00087415>.