

BEATRIZ DE MORAES VALERY

**Avaliação de efetividade de coleira inseticida impregnada com piretróides
na redução da incidência da resposta sorológica para leishmaniose visceral
canina**

São Paulo

2022

BEATRIZ DE MORAES VALERY

Avaliação de efetividade de coleira inseticida impregnada com piretróides na redução da incidência da resposta sorológica para leishmaniose visceral canina

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

Departamento:

Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal (VPS)

Área de concentração:

Epidemiologia Experimental 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 Virgínia Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 4256
FMVZ

Valery, Beatriz de Moraes
Avaliação de efetividade de coleira inseticida impregnada com piretróides na redução da incidência da resposta sorológica para leishmaniose visceral canina / Beatriz de Moraes Valery. – 2022.
54 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – 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. Controle. 2. Coleira repelente. 3. Leishmaniose visceral canina. 4. Deltametrina. 5. Cães. I.
Título.



Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Universidade de São Paulo

São Paulo, 1st July 2022

CERTIFIED

We certify that the Research "Evaluation of the effectiveness of collar impregnated with pyrethroids in reducing the incidence of serological response for canine visceral leishmaniasis.", protocol number CEUAX 4785030122 (ID 002040), under the responsibility Rodrigo Martins Soares, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Ethic Committee in the Use of Animals of School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo), and was approved in the meeting of day January 27, 2022.

Certificamos que o protocolo do Projeto de Pesquisa intitulado "Avaliação de efetividade de coleira inseticida impregnada com piretróides na redução da incidência da resposta sorológica para leishmaniose visceral canina.", protocolado sob o CEUAX nº 4785030122, sob a responsabilidade de Rodrigo Martins Soares, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, e foi aprovado na reunião de 27 de janeiro 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: VALERY, Beatriz de Moraes

Título: Avaliação de efetividade de coleira inseticida impregnada com piretróides na redução da incidência da resposta sorológica para leishmaniose visceral canina

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

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Dedico o presente trabalho à memória da minha mãe, Solange, quem sempre me ajudou a enfrentar cada obstáculo na vida e muito me incentivou a seguir a área acadêmica.

“A Medicina cura o homem, a Medicina Veterinária cura a humanidade”

Louis Pasteur

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao meu orientador, Prof. Dr. Rodrigo Martins Soares, por todo o ensinamento, pela confiança e pelo apoio profissional e pessoal frente aos obstáculos que enfrentei durante os anos do mestrado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 88887.354319/2019-00.

Agradeço ao Centro de Controle de Zoonoses de Bauru e ao médico veterinário Luiz Ricardo Paes de Barros Cortez, por cederem as amostras e dados utilizados neste trabalho.

Agradeço ao meu pai Wagner, minha irmã Bárbara e minha avó Laurita pelo apoio, incentivo e acolhimento durante esses anos.

Agradeço também aos meus amigos que me apoiaram, especialmente à Thais Catharino Malhão, pela ajuda na tradução do resumo à língua inglesa.

RESUMO

VALERY, B.M. **Avaliação de efetividade de coleira inseticida impregnada com piretróides na redução da incidência da resposta sorológica para leishmaniose visceral canina.** [Evaluation of the effectiveness of an insecticidal collar impregnated with pyrethroids in reducing the incidence of serological response to canine visceral leishmaniasis]. 2022. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

A leishmaniose visceral (LV) é uma zoonose de distribuição mundial e que tem os cães como principais reservatórios do agente causal em áreas urbanas. É uma doença endêmica na maior parte do território brasileiro, onde é tentativamente controlada por meio do Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (PVCLV). Pelo PVCLV, preconiza-se, entre outras medidas, a eutanásia de cães soropositivos para LV, quando em áreas endêmicas. A eutanásia de cães tem se mostrado uma medida pouco efetiva, além de socialmente muito criticada e por isso muito pouco tolerada pela população. Não há vacinas com comprovada eficácia para reduzir a transmissão e por isso, o encoleiramento total da população canina com coleiras impregnadas com inseticidas tem sido uma medida cada vez mais empregada para auxiliar no combate à transmissão da doença. No ano de 2018, o Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) de Bauru, estado de São Paulo, iniciou trabalhos para encoleiramento estratégico em cães, em que apenas cães soropositivos foram encoleirados com coleiras impregnadas com deltametrina 4% (CID). Neste estudo, foram avaliados os resultados deste empreendimento realizado em um bairro da cidade, o bairro Dutra, localizado a Oeste da área urbana da cidade, para aferir se a medida adotada teria reduzido a incidência da infecção na população canina local. No mês de junho de 2018 (tempo T1), os cães do bairro foram testados pelos métodos sorológicos empregados pelo serviço oficial de saúde do município. No mês de maio do ano seguinte, em 2019 (tempo T2), novo inquérito censitário sorológico foi realizado quando se determinou a taxa de incidência da LV no período. Entre T1 e T2, o bairro esteve sob vigência do PVCLV. Os animais soropositivos em T2 foram encoleirados com CID e, decorridos 17 meses, em outubro de 2021 (T3), um terceiro inquérito foi realizado, quando nova taxa de incidência para o período foi calculada. Entre os tempos T2 e T3, os animais soropositivos e que foram encoleirados em T2 foram revisitados para a reposição das coleiras, em decorrência da expiração de sua validade. Entre T2 e T3, os cães soropositivos não foram eutanasiados compulsoriamente, mas os tutores foram orientados sobre os riscos da doença e instruídos para que recorressem aos serviços do CCZ assim que

entendessem que seus animais deveriam ser eutanasiados. As taxas de incidências da sororreatividade entre os tempos T1 e T2 e os tempos T2 e T3 foram comparadas entre si, com vistas a estimar o risco relativo da medida de controle convencional em relação à medida de controle alternativa. As taxas de incidência corresponderam à razão entre o número de novos animais sororreagentes entre um tempo e outro e a somatória do tempo de participação de cada animal em cada período. Os resultados mostraram que o risco para reatividade sorológica para LV durante o primeiro período de estudo foi 1,5 vezes superior ao risco durante o período posterior, indicando que o encoleiramento estratégico dos cães soropositivos, mesmo sem a eutanásia compulsória, pode ser uma medida efetiva para o controle da LV em áreas endêmicas.

Palavras-chave: Controle. Coleira repelente. Leishmaniose visceral canina. Deltametrina. Cães.

ABSTRACT

VALERY, B.M. **Evaluation of the effectiveness of an insecticidal collar impregnated with pyrethroids in reducing the incidence of serological response to canine visceral leishmaniasis** [Avaliação de efetividade de coleira inseticida impregnada com piretróides na redução da incidência da resposta sorológica para leishmaniose visceral canina]. 2022. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

Visceral leishmaniasis (VL) is a zoonosis with worldwide distribution and dogs are the main reservoirs of the causal agent in urban areas. VL is endemic in most of the Brazilian territory, where it is tentatively controlled through the Visceral Leishmaniasis Surveillance and Control Program (VLSCP). In endemic areas, the VLSCP recommends, among other measures, the euthanasia of seropositive dogs. The euthanasia of dogs has been shown non-effective, in addition to being controversial and non-tolerated by the population. There are no vaccines with proven capability of reducing disease transmission and therefore, the total collaring of the canine population with collars impregnated with insecticides have been increasingly employed for VL control. In 2018, the Center for Zoonoses Control (CZC) in Bauru, state of São Paulo, has started the strategic collaring in dogs, in which only seropositive dogs have been collared with impregnated collars with deltamethrin 4% (CID). In this study, the results of the strategic collaring carried out in a neighborhood of the city, named Dutra, located in the western region of the urban area of the city, were evaluated to assess whether strategic collaring would have reduced the incidence of infection in dogs. In June 2018 (time T1), the dogs in the neighborhood were tested by the serological methods used by the official health service of the municipality. In May of the following year, in 2019 (time T2), a new serological survey was carried out to determine the incidence rate of VL in the period. Between T1 and T2, the neighborhood was under the PVCLV. Seropositive animals at T2 were collared with CID and, after 17 months, in October 2021 (T3), a third survey was carried out, when a new incidence rate for the period was calculated. Between the times T2 and T3, the seropositive animals that were collared in T2 were revisited for the replacement of the collars, due to the expiration date. Between T2 and T3, the seropositive dogs were not compulsorily euthanized, but the tutors were instructed on the risks of the disease and advised to fall back to the CCZ services as soon as they understood that their animals should be euthanized. The incidence rates of seroreactivity between times T1 and T2 and times T2 and T3 were compared with each other, in order to estimate the relative risk of the conventional control measure in relation to the alternative control measure. The incidence rates

corresponded to the ratio between the number of new seroreactive animals during the period of observation and the sum of the time of participation of each animals in that period. The results showed that the risk for serological reactivity to VL during the first period was 1.5 times greater than the risk during the subsequent period, indicating that strategic collaring of seropositive dogs, even without compulsory euthanasia, can be an effective measure for the VL control in endemic areas.

Keywords: Control. Repellent collar. Canine visceral leishmaniasis. Deltamethrin. Dogs.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	13
1.1 LEISHMANIOSES NO BRASIL.....	13
1.1.1 Histórico	13
1.1.2 Agente etiológico	14
1.1.3 Vetor	15
1.1.4 Transmissão	15
1.2 LEISHMANIOSE VISCERAL	16
1.3. PREVENÇÃO E CONTROLE DA LV NO BRASIL	18
2. JUSTIFICATIVAS E OBJETIVOS	24
3. MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1. LOCAL DE ESTUDO.....	26
3.2. SORODIAGNÓSTICO	28
3.3. PROGRAMAS DE CONTROLE DE LV	29
3.4. MEDIDAS DE FREQUÊNCIA E DE RISCO	29
3.5. ASPECTOS ÉTICOS	30
4. RESULTADOS	31
5. DISCUSSÃO	38
6. CONCLUSÕES	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

1. INTRODUÇÃO

As leishmanioses são doenças infecciosas não-contagiosas, classificadas como antropozoonoses, transmitidas por vetores artrópodes e causadas por diferentes espécies de protozoários do gênero *Leishmania*. Podendo acometer humanos e animais, as diferentes espécies do gênero *Leishmania* causam uma ampla variedade de manifestações clínicas, de forma que as leishmanioses podem apresentar-se como leishmaniose cutânea, leishmaniose mucocutânea e leishmaniose visceral (LV) (DESJEUX, 2004). As leishmanioses têm ampla distribuição mundial e ocorrem endemicamente na Europa, África mediterrânea, Oriente Médio, Sul e Sudeste asiáticos, bem como Américas do Sul e Central (WHO, 2017).

1.1 LEISHMANIOSES NO BRASIL

1.1.1 Histórico

Durante o século XIX, as lesões cutâneas apresentadas por pacientes na África e Ásia, primordialmente na Índia, eram conhecidas por diversos nomes, dependendo da região em que eram encontradas, como “Botão do Oriente”, “Úlcera Armênia” e “Botão de Biskra”. Entretanto, já no início do século XX ficava claro que se tratavam da mesma doença, causada pelo protozoário do gênero *Leishmania* e, posteriormente, a doença foi definida como leishmaniose (BENCHIMOL et al. 2020).

Em 1895, o médico baiano Juliano Moreira publicou estudo associando clinicamente a doença então conhecida como “Botão da Bahia” ao já conhecido “Botão de Biskra”. Em 1909, pesquisadores do Instituto Pasteur e do Instituto Bacteriológico de São Paulo relataram a detecção de *Leishmania sp.* nas lesões cutâneas denominadas, na ocasião, “úlceras de Bauru”, as quais estavam acometendo operários que trabalhavam na construção da Estrada de Ferro, fazendo a ligação de Bauru ao Mato Grosso à Bolívia. Diferentemente da doença já conhecida em outros lugares do mundo, está apresentava-se com quadro clínico mais grave,

com alta letalidade e que posteriormente foi denominada como Leishmaniose Tegumentar Americana. Naquela época, a doença ocorria apenas em áreas rurais, tendo sido comprovada seu caráter autóctone (BENCHIMOL et al. 2020).

Em 1912, Luis Enrique Migone, médico paraguaio, realizou o primeiro diagnóstico de uma doença que seria conhecida mais tarde como LV, em um indivíduo que fora operário da mesma construção no Brasil. O paciente apresentava febre, diarreia, perda de peso, hepato e esplenomegalias, lesões cutâneas, além de anemia. Este foi considerado um caso isolado até 1934, quando o patologista Henrique Penna identificou 41 novos casos de LV no país, em material oriundo de autópsias realizadas em casos suspeitos de Febre Amarela (LAINSON, 2010; BENCHIMOL et al. 2020). Em 1936, Evandro Chagas descreveu os primeiros casos de pacientes vivos infectados por *Leishmania sp.* no Brasil (SALOMÃO et al. 2017; BENCHIMOL et al. 2020).

Em 1920 foi criado o Departamento Nacional de Saúde Pública (DNSP), e as Leishmanioses foram incluídas como doenças de notificação obrigatória, o que persiste até os dias atuais, incluindo casos caninos (BRASIL, 2022a; BENCHIMOL et al. 2020; BRASIL, 2022b). Em meados de 1980, a LV, até então concentrada na região Nordeste do país, passou a se expandir para outras regiões e passando a incidir em cada vez mais estados, inclusive os da região Sul (GONTIJO et al., 2004; SALOMÃO et al. 2017). Atualmente, o Brasil é endêmico tanto para leishmanioses tegumentares quanto para leishmanioses viscerais, e devido ao elevado número de casos anuais, sua ampla expansão geográfica e a dificuldade no controle, as leishmanioses se tornaram um problema de saúde pública no país (SALOMÃO et al. 2017; GALVIS-OVALLOS et al., 2020).

1.1.2 Agente etiológico

Os agentes etiológicos das leishmanioses pertencem ao Reino Protista, Sub-reino Protozoa, Filo Sarcomastigophora, Sub-filo Mastigophora, Classe Zoomastigophorea, Ordem Kinetoplastidea, Sub-ordem Trypanosomatina, Família Trypanosomatidae, Gênero *Leishmania*, Subgêneros *Leishmania* e *Viannia* (BRASIL, 2006; LAINSON et al., 2010; SALOMÃO et al., 2017).

No Brasil, as leishmanioses cutâneas são causadas majoritariamente pelas espécies *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *Leishmania (Leishmania) amazonensis* e *Leishmania (Leishmania) guyanensis*, enquanto a LV é causada por *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* (CAMARGO et al., 2006). Há descrições, embora raras, de leishmanioses viscerais tendo como causa agentes normalmente associados às leishmanioses cutâneas (TOLEZANO et al., 2007).

1.1.3 Vetor

Os vetores conhecidos da LV no Brasil são flebotomíneos do gênero *Lutzomyia*, espécies *Lutzomyia longipalpis* e *Lutzomyia cruzi*, sendo *Lu. longipalpis* a espécie de maior importância (LAINSON, SHAW 1987; GALATI et al. 1997; DOS SANTOS et al., 1998). Investigações têm demonstrado que outras espécies de flebotomíneos devem estar incriminadas da transmissão da LV no país (SAVANI et al., 2009; DE CARVALHO et al., 2010; GALVIS-OVALLOS et al., 2017). Conhecido popularmente como “mosquito palha”, o vetor pode ser encontrado em todas as regiões do país, já tendo sido detectado até mesmo em locais de menor favorabilidade, como a região Sul (SOUZA; DOS SANTOS; FILHO, 2009).

Se tratando de *Lu. longipalpis*, possui quatro estágios de desenvolvimento: ovo, larva, pupa e adulto. Os ovos eclodem cerca de 7 a 10 dias após a postura, larvas se desenvolvem entre 20 e 30 dias e as pupas evoluem para adultos aproximadamente após 7 a 14 dias. A forma adulta apresenta período de atividade crepuscular e noturno, permanecendo em repouso durante o dia (BRASIL, 2006; KASPER et al. 2015).

1.1.4 Transmissão

A transmissão da doença depende da presença do vetor e de um hospedeiro vertebrado que participa como fonte de infecção (GONTIJO; MELO, 2004). A infecção ocorre quando as fêmeas de *Lu. longipalpis* se alimentam do sangue do hospedeiro infectado, ingerindo

macrófagos que fagocitaram as formas amastigotas de *Leishmania sp.* No vetor, o agente etiológico evolui para a forma promastigota, a forma infectante. O ciclo de vida do parasito no artrópode ocorre em 72 horas, e após esse período, quando a fêmea se alimenta do sangue de outro hospedeiro, inocula, junto com sua saliva, a forma infectante que será fagocitada na epiderme do hospedeiro, em um processo contínuo até alcançar a corrente sanguínea e posteriormente linfonodos, medula óssea, fígado e baço (BRASIL, 2014).

1.2 LEISHMANIOSE VISCERAL

A LV é uma doença sistêmica grave, podendo ser letal ao ser humano e aos animais (GUERIN et al., 2002). É um problema global de saúde pública, ocorre em diferentes regiões do mundo como América do Sul, Europa Mediterrânea, África e Ásia e considerada pela Organização Mundial de Saúde como uma doença reemergente e negligenciada (WHO, 2019).

De acordo com dados do Ministério da Saúde (BRASIL, 2022), a LV é endêmica em 76 países, dentre eles, pelo menos 12 pertencem ao continente americano. Dos casos registrados na América Latina, 90% ocorrem no Brasil, onde, em média, cerca de 3.500 casos são registrados anualmente. A LV vem sendo descrita em vários municípios brasileiros, apresentando mudanças importantes no padrão de transmissão, inicialmente predominando em ambientes silvestres e rurais e mais recentemente, em centros urbanos.

Os cães (*Canis familiaris*) são reservatórios e considerados a principal fonte de infecção da doença em ambiente urbano, exercendo papel determinante na cadeia epidemiológica da LV no Brasil neste ambiente (BRASIL, 2022). Assim como os cães, os gatos (*Felis catus*) também têm uma grande proximidade ao homem e são suscetíveis à infecção, tendo seu primeiro caso relatado em 1912, na Argélia (MAIA; CAMPINO, 2008) e em 1940, no Brasil (MELLO et al. 1940). Entretanto, o papel dos gatos no ciclo urbano das Leishmanioses ainda não é completamente esclarecido (PIRAJÁ et al., 2013).

Os hospedeiros silvestres da *L. infantum* podem incluir carnívoros, primatas, marsupiais, edentados, lagomorfos, roedores, morcegos, entre outros (SANTIAGO et al., 2007; BECK et al., 2008; MALTA et al., 2010; DE ARAÚJO et al. 2012; MOLINA et al.,

2012), que por possuírem hábitos sinantrópicos, podem promover a ligação entre os ciclos silvestre e urbano da doença além de refletirem a condição sanitária do ambiente e servirem como sentinelas para o risco de infecção humana (AGUIRRE, 2009; DA SILVA et al., 2010).

1.2.1. A LV em humanos

A LV em humanos tem período de incubação médio de 2 a 6 meses e as manifestações clínicas variam de assintomáticos até a forma típica da doença, com febre, palidez cutânea e mucosa, anemia, hepatomegalia acentuada, esplenomegalia, linfadenomegalia, manifestações hemorrágicas, inapetência e emagrecimento (PASTORINO et al., 2002; KASPER et al. 2015; SALOMÃO et al. 2017; BRASIL, 2022). Importante ressaltar a dificuldade no diagnóstico clínico da doença, uma vez que seus sinais clínicos podem ser confundidos com doença de Chagas, malária, esquistossomose, febre tifoide e tuberculose (GONTIJO; MELO, 2004). O tratamento preconizado no Brasil é com compostos antimoniais, sob a forma de sais pentavalentes como antimoniato de N-metil glucamina - Glucantime® e estibogluconato de sódio - Pentostan® (GONTIJO; MELO, 2004; BRASIL, 2022). Pacientes tratados apresentam rápida recuperação, com uma semana de tratamento demonstram regressão de visceromegalias e melhora dos parâmetros hematológicos. Nesse período, os parasitos já não são mais visíveis em amostras de medula óssea. Entretanto, a LV apresenta agravamento, com maior taxa de letalidade em pessoas com comorbidades, principalmente em portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV), que podem apresentar recidiva da doença e em crianças subnutridas. A pobreza, o êxodo rural-urbano, a falta de saneamento básico e a desnutrição são fatores de risco importantes para a ocorrência e o agravamento da doença (WERNECK et al. 2010; Salomão et al. 2017). Importante ressaltar que se a LV não for tratada, evolui para óbito em 90% dos casos, e mesmo em casos tratados, tem uma taxa de mortalidade elevada, de cerca de 10% (BRASIL, 2022).

1.2.2. A LV em cães

A LV em cães tem período de incubação médio de 3 a 7 meses, podendo persistir durante anos. Assim como no homem, a doença também pode se manifestar de forma assintomática, entretanto, sua forma clássica apresenta lesões cutâneas, como descamações e eczema, principalmente em espelho nasal e orelhas; hiperqueratose; pequenas lesões ulcerativas rasas em orelhas, focinho, cauda e articulações; pêlos opacos; onicogribose; esplenomegalia; linfadenopatia; alopecia; ceratoconjuntivite; coriza; apatia; diarreia; episódios eméticos; hemorragia intestinal e edema de membros. Em casos terminais, no geral, apresenta paresia de membros pélvicos, anorexia e consequente óbito. O tratamento canino com as drogas para tratamento de LV em humanos é proibido pela legislação vigente, portaria interministerial nº 1.426, de 11/07/08, frente ao risco dos parasitos desenvolverem resistência ao antiparasitário. Atualmente há uma droga autorizada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), para o tratamento de LV em caninos, o Milteforan®, entretanto, o tratamento não é recomendado pelo Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (PVCLV), uma vez que promove apenas uma remissão temporária dos sinais clínicos, não evitando recidivas. Contudo, há necessidade de reavaliações clínicas, laboratoriais e parasitológicas pelo médico veterinário (BRASIL, 2016; BRASIL, 2022).

1.3. PREVENÇÃO E CONTROLE DA LV NO BRASIL

No Brasil, está vigente o PVCLV, de abrangência nacional e de adesão compulsória pelos municípios onde a doença é endêmica. O PVCLV é baseado, entre outras medidas, no diagnóstico precoce e tratamento dos casos humanos, controle do vetor, educação em saúde, e principalmente, sorodiagnóstico e eliminação da principal fonte de infecção, os cães domésticos infectados (BRASIL, 2014).

Pacientes humanos são tratados gratuitamente pela rede pública de saúde e medidas sanitárias para controle de vetores são adotadas nos focos de casos humanos. Quanto ao controle do vetor, é feito quimicamente pelo uso de inseticidas de ação residual, eliminando o

mosquito em sua forma adulta. Contudo, GALVIS-OVALLOS et al. (2020) apontam como desafio para o controle vetorial a falta de monitoramento sistematizado e a escassez de recursos operacionais. Medidas de educação sanitária de ordem geral são preconizadas com vistas a promover a limpeza do ambiente para eliminar ou reduzir criadouros de formas imaturas do vetor e orientações para o uso de telas e compostos repelentes (BRASIL, 2022).

De acordo com o PVCLV, municípios localizados em áreas endêmicas devem realizar inquéritos sorológicos amostrais em cães anualmente e naqueles em que forem registradas prevalências acima de 2%, deve-se realizar inquéritos censitários (inquéritos contemplando a totalidade da população canina). Os testes diagnósticos utilizados nos inquéritos sorológicos são o teste rápido TR-DPP® Leishmaniose Visceral Canina, Biomanguinhos (DPP) e EIE Leishmaniose Visceral Canina, Biomanguinhos (ELISA), realizados em série e os cães reagentes em ambos são eutanasiados (BRASIL, 2006). Entretanto, a realização da eutanásia depende do consentimento do tutor do animal, o qual pode optar pelo tratamento com fármacos registrados no MAPA para este fim. Caso opte pelo tratamento, o tutor deve fazer o uso concomitante de coleiras repelentes, sendo que nenhuma destas medidas são custeadas pelo poder público (BRASIL, 2016).

GONTIJO; MELO et al. (2004), apontaram dificuldades do atual programa de controle brasileiro como falta de padronização dos métodos diagnósticos da infecção humana e canina, a controversa comprovação científica da eficácia da eliminação de cães soropositivos na população, a existência de reservatórios além do cão na população e a escassez de estudos sobre o impacto das ações de controle dirigidas contra os vetores. Estes apontamentos podem explicar o pouco sucesso deste programa na redução da ocorrência da doença em território brasileiro, que, ao contrário de estar sob controle, está em expansão (GONZÁLEZ et al., 2019; QUINNELL et al., 2009; WERNECK, 2010).

Ainda, diversas outras condições que comprometem a efetividade e o sucesso das medidas de controle da LV podem ser pontuadas como a falta de recursos materiais e humanos para a execução das atividades previstas no PVCLV (COSTA, et al., 2020), questões de natureza jurídica em relação a eutanásia dos animais, bem como o tempo excessivo decorrido entre a colheita de material no campo e eutanásia dos cães soropositivos (COURTENAY et al., 2002). A eutanásia de cães soropositivos é uma medida cada vez mais combatida e menos aceita pela sociedade, o que culmina com a baixa adesão de tutores em relação à entrega de animais infectados (RIBEIRO, 2005).

Assim, em razão dos vultosos questionamentos em relação à efetividade da eliminação de fontes de infecção caninas, bem como de aspectos éticos e humanitários associados a este procedimento, medidas alternativas para o controle da LV em fontes de infecção animais têm sido propostas, como é o caso da até aqui pouco promissora vacinação e da alternativa mais bem sucedida representada pelo uso de coleiras impregnadas com inseticidas.

1.3.1 Vacinas para LV

Em 2003, a Leishmune® (Zoetis Saúde Animal) foi a primeira vacina canina a ter uso autorizado no Brasil, composta pelo ligante fucose-mannose (FML) de promastigotas de *L. donovani*. Posteriormente, em 2007 foi registrada a Leish-Tec® (Ceva Saúde Animal), composta pela proteína recombinante A2 de amastigotas de *L. donovani* (DE ALBUQUERQUE, 2020; VELEZ et al., 2020; BRASIL, 2022). Segundo o fabricante (Ceva, 2022), a vacina apresenta 96,41% de proteção contra a LV em cães no grupo vacinado, correspondendo a 71,3% de eficácia vacinal.

Em 2011 a vacina Canileish® foi registrada na Europa, sendo composta por proteínas excretadas de *L. infantum* (DE ALBUQUERQUE et al., 2020).

Em 2014, o MAPA suspendeu a licença de fabricação e comercialização da Leishmune® devido ao “não cumprimento ao Regulamento técnico para pesquisa, desenvolvimento, produção, registro e renovação de licenças, comercialização e uso de vacina contra Leishmaniose Visceral Canina, aprovado pela instrução normativa interministerial nº31/2007. A vacina não atendeu completamente os requisitos para estudo de fase 3, referente à avaliação da eficácia vacinal previstos no regulamento, conforme avaliações realizadas pelo MAPA e Ministério da saúde” (BRASIL, 2014).

A vacina mais recentemente aprovada para uso veterinário na Europa foi a Letifend®, em 2016, fabricada a partir de uma proteína quimérica “Q” com cinco fragmentos antigênicos de quatro proteínas ribossômicas diferentes de *L. infantum* (DE ALBUQUERQUE, et al. 2020).

Atualmente, apenas a Leish-Tec® tem registro no MAPA, tendo apresentado imunidade parcial contra a infecção por *L. infantum* e reduzindo o agravamento da doença (DE ALBUQUERQUE et al., 2020). A vacina deve ser administrada apenas em animais assintomáticos, com resultados sorológicos não reagentes para *L. infantum* (BRASIL, 2022), em esquema vacinal inicial de 3 doses com intervalo de 21 dias em cães a partir de 4 meses de idade e uma dose de reforço anual, na dose de 1mL/animal administrada em via subcutânea (CEVA SAÚDE ANIMAL). Entretanto, o PVCLV permanece não indicando a vacinação, uma vez que não há constatação de seu custo-benefício e efetividade para o controle de reservatório da leishmaniose visceral em programas de saúde pública (BRASIL, 2006).

Uma questão importante acerca das vacinas é a possibilidade de um cão vacinado resultar em um falso-positivo nos testes sorológicos, o que poderia causar sua eutanásia de acordo com as medidas de controle previstas no PVCLV. Todavia, Palatnik-de-sousa et al. (2009) estudaram Leishmune® e concluíram que apenas 1,3% (76 entre 5.860) dos cães vacinados não infectados positivaram nos testes sorológicos. Neste mesmo estudo, em Araçatuba-SP, região endêmica, após a vacinação foi observado um declínio na incidência de LV em cães e humanos, de 25% e 61%, respectivamente. Em 2017, de Campos et al., vacinaram animais em dois canis, um com Leishmune® outro com Leish-Tec® e observaram que as vacinas não geraram resposta imunológica capaz de positivar frente aos testes DPP e ELISA, entretanto, apenas 22 animais participaram do estudo.

Fernandes et al. (2014) compararam a efetividade das vacinas Leishmune® e Leish-Tec® durante o período de dois anos, aplicadas em cães assintomáticos e soronegativos, residentes em área endêmica para LV no estado da Bahia e constataram que cães vacinados com Leishmune® apresentaram níveis mais altos de IgGs e que animais vacinados com Leish-Tec® apresentaram uma frequência maior de reações adversas sistêmicas, enquanto os vacinados com Leishmune® apresentaram apenas reações adversas locais. Grimaldi et al. (2017) também avaliaram os efeitos vacinais da Leish-Tec® em regiões endêmicas durante dois anos, e concluíram que a vacina pode não reduzir a incidência de LV em cães de área endêmica, não impactando na redução de casos humanos.

Ainda não há vacinas contra LV autorizadas para uso humano, existem pesquisas promissoras em andamento com a LEISH-F3, composta por nucleosídeo hidrolase NH36 de *Leishmania donovani*, semelhante ao antígeno da Leishmune®, testada em fase 1 em humanos sadios nos Estados Unidos e em humanos diagnosticados com LV em Bangladesh, e

em ambos os casos a vacina mostrou-se segura e desencadeou uma boa resposta imunológica (DE ALBUQUERQUE, 2020; PALATNIK-DE-SOUSA, 2020).

1.3.2. Coleiras impregnadas com inseticidas

O princípio ativo Deltametrina é um piretróide sintético estudado há décadas para o controle de flebotômíneos, seja em forma de pulverização (RITA, 1993) ou em coleiras caninas. O uso das coleiras impregnadas com Deltametrina 4% vem demonstrando sua eficácia tanto em sua ação repelente quanto em sua ação inseticida, com altas taxas de mortalidade do vetor, resultando na redução da circulação do agente etiológico nas regiões em que o cão é o principal reservatório da doença (DAVID et al., 2001; SILVA et al., 2018; ALVES et al. 2020; ZAHID et al., 2020). Ainda, é considerada uma eficaz medida de controle de LV em cães, protegendo tanto os cães encoleirados quanto os não encoleirados devido à sua ação inseticida, e conseqüentemente diminui a taxa de incidência da infecção em humanos (DAVID et al., 2001; SILVA et al., 2019; YIMAM; ZAHID et al., 2020).

David et al. (2001) observaram que o efeito repelente da coleira contra *Lu. longipalpis* atingiu 100% de efetividade após 8 semanas de uso, apresentando na 16ª semana, 96% e na 35ª semana, ainda apresentava efetividade de 94%, concluindo que com 8 meses de uso, ainda havia efeito repelente nas coleiras. Já a ação inseticida variou entre 96% com 4 semanas e 35% na 35ª semana de uso. Em 2018, Paulin et al. avaliaram os efeitos repelentes das coleiras durante 364 dias, e obtiveram um resultado de 94% de eficácia em relação ao grupo controle, concluindo que as coleiras atuam reduzindo o risco de transmissão da LV em até um ano de uso.

Contudo, Alves et al. 2018 apontam que um obstáculo na implementação do encoleiramento dos cães como medida de controle da LV é a elevada frequência da perda de coleiras, obtendo perda de 56% em seu trabalho.

Estudos mostraram que o uso de coleiras inseticidas apresenta uma efetividade maior no controle da doença em comparação à eutanásia de cães soropositivos, que atualmente ainda é uma medida de controle preconizada pelo PVCLV. Tal resultado se deve a vários fatores, primordialmente pela maior aceitação do encoleiramento pelos tutores dos cães (DAVID et al., 2001; SEVÁ et al., 2016; ALVES et al. 2018).

Em 2020, Assis et al. demonstraram que o uso de coleiras com inseticidas seria uma medida de controle com custo-benefício melhor se fosse implementada ao SUS em relação à eutanásia canina. No mesmo ano, Sevá et al. avaliaram o custo-benefício da vacinação em comparação ao uso das coleiras e concluíram que mesmo com uma taxa de 40% de perda de coleiras, o encoleiramento ainda seria mais vantajoso.

De forma geral, estudos mostram que o encoleiramento é eficaz na redução do risco de infecção em cães. Estudos prospectivos apontam claramente que animais não encoleirados tem risco significativamente maior de adquirir a infecção do que animais encoleirados, em magnitudes que podem variar de 1,5 vezes a 3,3 vezes. (KAZIMOTO et al., 2018; LEITE et al., 2018, COURA-VITAL et al., 2018 e ALVES et al., 2020). Por esta razão, já em 2021, o PVCLV incorporou proposta para uso massivo de coleiras em cães para o controle de leishmaniose visceral, em municípios prioritários (BRASIL 2021).

Cortez (2022), em trabalho pioneiro ainda não publicado, avaliou a efetividade do encoleiramento exclusivo de cães de soropositivos em relação ao programa convencional PVCLV em dois bairros de Bauru, SP, entre os anos de 2018 e 2019. O autor analisou os resultados de inquéritos sorológicos para LV em populações caninas dos dois bairros obtidos em três tempos consecutivos, com intervalos de cerca de 200 dias entre eles. Os dados obtidos a partir destes inquéritos permitiram comparar as taxas de incidências entre os bairros em um mesmo período de tempo, bem como as taxas de incidência de um mesmo bairro, mas em dois períodos de tempos consecutivos. Em um dos bairros aplicou-se o encoleiramento exclusivo de soropositivos e o outro esteve sob vigência do PVCLV, no qual a eutanásia de animais soropositivos era aplicada. A comparação entre as taxas de incidência de reatividade sorológica nos dois bairros durante o período do estudo mostrou que a medida de encoleiramento de soropositivos foi mais efetiva que a eutanásia de soropositivos na redução da soropositividade dos cães, pois o risco para reatividade sorológica no bairro onde a eutanásia foi praticada como método de controle foi até 4 vezes superior que o risco no bairro onde se praticou o encoleiramento de soropositivos.

Os resultados promissores obtidos por Cortez (2022) encorajaram a realização do presente estudo descrito nos itens seguintes.

2. JUSTIFICATIVAS E OBJETIVOS

Em vista do que foi apresentado, entende-se que a adoção de medidas de controle para a LV alternativas àquelas prescritas pelo PVCLV devam ser encorajadas.

Doenças transmitidas por vetores artrópodes poderão experimentar expansão territorial em decorrência de alterações climáticas que podem provocar importantes alterações na distribuição geográfica dos vetores da LV. Apesar da vigência de programa específico de controle da LV no país, a doença continua a se disseminar. Ainda, o PVCLV tem o inconveniente de contar com a eutanásia de cães infectados, uma medida cada vez menos aceita pela sociedade, que conta com muita pouca adesão da população o que prejudica sobremaneira o sucesso do programa.

Por isso, o CCZ Bauru-SP, visando propor novas medidas de controle, vem adotando procedimentos alternativos de controle da doença em população canina. Nos anos de 2018, 2019 e 2021, o CCZ Bauru-SP amostrou cães domiciliados de um bairro da cidade denominado Vila Dutra, onde este serviço oficial aplicou medida de controle por encoleiramento para o controle de LV em cães. Entretanto, esta abordagem, que vem sendo empregada também em outros bairros deste município, como aquela relatada por Cortez (2022), trata-se de uma estratégia em que apenas cães soropositivos são encoleirados, diferentemente do uso convencional que se faz deste recurso, que se baseia em encoleirar os animais soronegativos ou a totalidade da população.

O encoleiramento estratégico deve ter um efeito similar ao da eliminação da fonte de infecção por eutanásia, já que reduz a possibilidade de vetores fazerem repasto em animais infectados e assim transmitir o agente a outros hospedeiros suscetíveis. Aqui, a medida de encoleirar apenas animais soropositivos foi tratada como encoleiramento estratégico.

Com vistas a atender as demandas por novos métodos de controle para LV, apresenta-se o trabalho a seguir, cujo objetivo foi avaliar a efetividade do encoleiramento de cães soropositivos na redução da reatividade a provas sorológicas em cães de uma área endêmica para LV da cidade de Bauru, no estado de São Paulo.

3. MATERIAL E MÉTODOS

No Brasil, está vigente PVCLV, de abrangência nacional e de adesão compulsória pelos municípios onde a doença é endêmica. No ano de 2018, a Prefeitura Municipal de Bauru, no estado de São Paulo, implementou em alguns bairros da cidade um programa de controle da LV em cães, alternativo em relação ao que é previsto no PVCLV. A medida baseou-se na aplicação de coleiras impregnadas com inseticida em cães detectados soropositivos para LV em inquéritos censitários, sem empregar a eutanásia compulsória dos animais infectados.

No presente estudo, o bairro Dutra, localizado a Oeste da área urbana de Bauru, teve inquérito sorológico censitário realizado nos cães no mês de junho de 2018. Os animais foram testados pela prova de DPP e as amostras reagentes foram confirmadas com a prova de ELISA, exatamente como previsto pelo PVCVL. O momento em que este inquérito foi realizado foi denominado como tempo 1 ou T1.

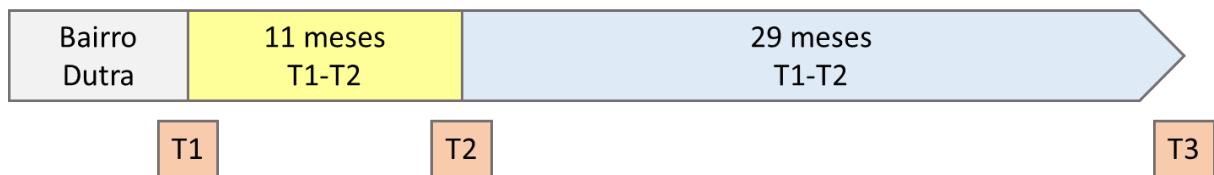
No mês de maio do ano seguinte, em 2019, novo inquérito censitário foi realizado e os animais do bairro foram novamente testados pelas provas DPP e ELISA aplicadas em série, exatamente como realizado no inquérito anterior. Este momento foi denominado tempo 2 ou T2. Nesta ocasião, os animais soropositivos foram encoleirados com coleiras impregnadas com inseticida. Entre os tempos T1 e T2, o bairro esteve sob vigência estrita do PVCLV.

Decorridos 17 meses, em outubro de 2021, um terceiro inquérito foi novamente realizado, como feito nos anos anteriores. Este foi o momento denominado tempo 3 ou T3. Entre os tempos T2 e T3, os animais soropositivos e que foram encoleirados em T2 foram revisitados para a reposição das coleiras, em decorrência da expiração de sua validade. Assim, entre os tempos T1 e T2, a população de cães esteve sob vigência do método convencional de controle da LV e entre os tempos T2 e T3, esteve sob vigência do método alternativo.

A soroprevalência para LV em cada tempo (em T1, T2 e T3), bem como as taxas de incidências da reatividade para os testes sorológicos entre os tempos T1 e T2 e os tempos T2 e T3 foram comparadas entre si, com vistas a estimar o risco relativo da medida de controle convencional em relação à medida de controle alternativa. As taxas de incidência corresponderam à razão entre o número de novos animais sororreagentes entre um tempo e

outro e a somatória do tempo de participação dos animais em cada período. A Figura 1 ilustra a linha do tempo para este estudo.

Figura 1 - Linha do tempo para a amostragem dos animais no bairro Dutra, em Bauru, SP, entre os meses de junho de 2018 e outubro de 2021

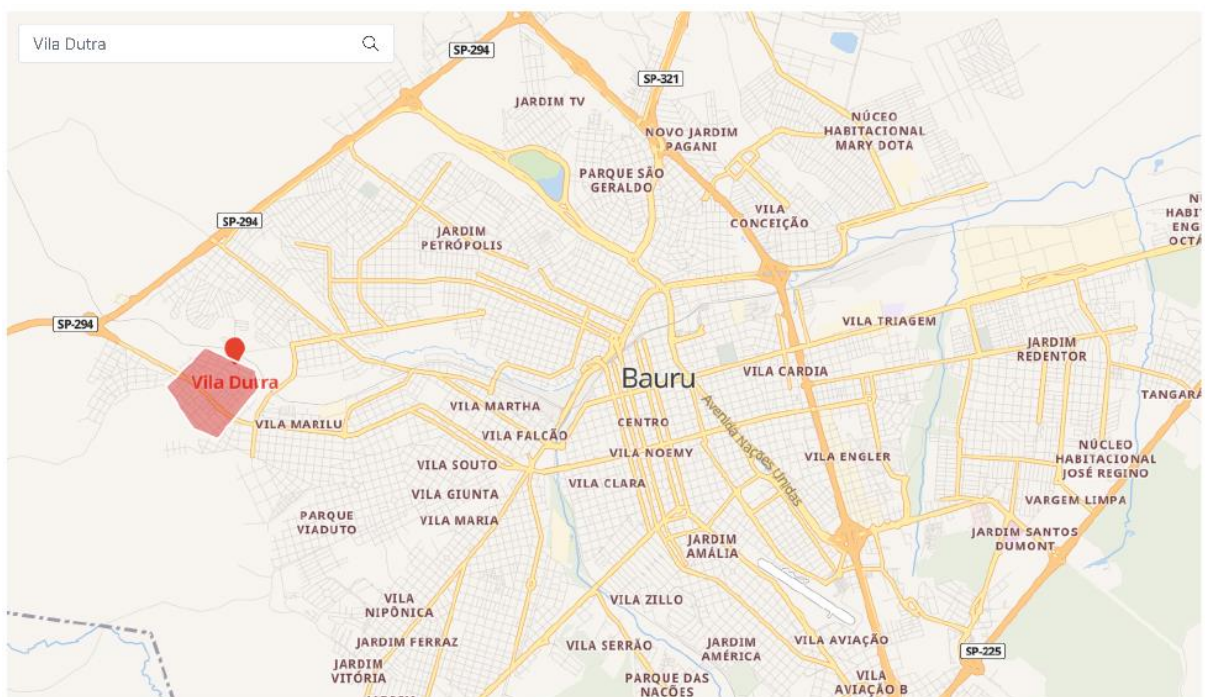
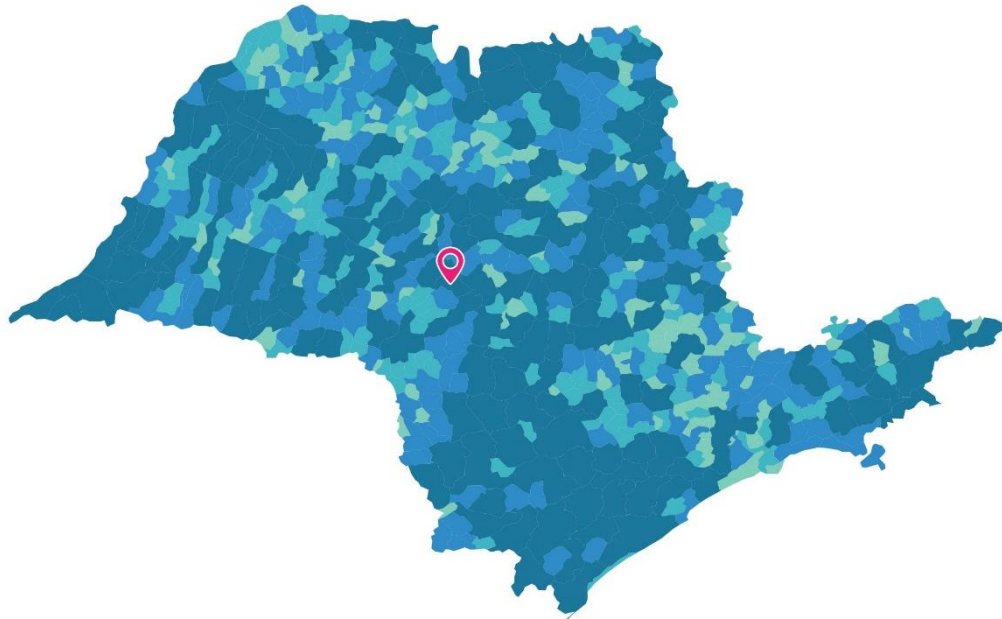


Os animais foram amostrados nos meses de junho de 2018, maio de 2019 e outubro de 2021, tempos T1, T2 e T3, respectivamente. Entre os tempos T1 e T2 decorreram 11 meses. Entre os tempos T2 e T3 decorreram 29 meses. Em T1-T2, a população canina esteve sob vigência do método convencional de controle de LV. Em T2-T3, vigeu o método alternativo de controle de LV. Fonte: Valery, B.M. (2022)

3.1. LOCAL DE ESTUDO

O município de Bauru, no estado de São Paulo, tem população estimada de 381.706 habitantes, localizado a 22°18'54" de latitude Sul e 49°03'39" de longitude Oeste e dista 326 quilômetros da capital do estado. É um município classificado com transmissão intensa e categorizado como prioritário para as ações de vigilância epidemiológica no estado. Com transmissão canina e humana, Bauru teve média de 23, 7 casos de LV em humanos por ano, no triênio 2015-2017 (HIRAMOTO et al., 2019). O bairro abordado é denominado Vila Dutra e está localizado na região oeste da área urbana (22°19'39.7"S 49°07'31.1"W) (Figura 2).

Figura 2 - Localização geográfica da área de estudo, no estado de São Paulo



Mapa superior mostra o município de Bauru, estado de São Paulo. No mapa inferior encontra-se a localização do bairro Dutra, na área urbana do município. Fontes: IBGE (2022); Google Earth (2022).

3.2. SORODIAGNÓSTICO

Para o sorodiagnóstico, foram utilizados o teste rápido TR-DPP® Leishmaniose Visceral Canina, Biomanguinhos (DPP) e EIE Leishmaniose Visceral Canina, Biomanguinhos (ELISA), em série. Cães detectados positivos por DPP foram submetidos a teste confirmatório por ELISA. A positividade em ambos os testes classifica o cão como infectado.

O teste DPP para detecção rápida de anticorpos contra antígenos K26/K39 específicos de *L. infantum* consiste em um cassete plástico contendo duas fitas de nitrocelulose conectadas em forma de “T” para permitir a migração independente do soro e do reagente para detecção de anticorpos. O soro migra por uma das fitas em direção à fita transversal, que contém uma linha de teste com antígenos K26/K39 e uma linha de antígeno controle. A adição de tampão ao poço do conjugado libera partículas de ouro coloidal acopladas à proteína A/G e promove a migração deste conjunto ao longo da fita que contém os antígenos. As partículas de ouro acopladas às proteínas A/G então reagem aos anticorpos, que já se encontram ligados aos antígenos, criando um complexo imunológico colorido na linha de teste. Na ausência de anticorpos específicos, nenhuma banda é visível na linha de teste. À medida que as partículas de ouro continuam a migrar ao longo da segunda fita, uma segunda linha é produzida na área de controle do dispositivo, independentemente da presença de anticorpo na amostra de teste. Esta reação indica o adequado funcionamento dos reagentes de teste.

Já o ELISA é realizado em poços convencionais, sensibilizados com antígenos solúveis de *Leishmania major*-like. A reação de anticorpos da classe IgG presentes no soro teste com antígenos presentes no poço são revelados com a presença de anti-IgGs acopladas com enzimas que reagem com compostos cromógenos, indicando o sinal positivo da reação. Controles positivos e negativos são utilizados para se estabelecer os padrões de positividade, de acordo com a intensidade da cor gerada pelo sistema cromógeno, quantificada por espectrofotometria.

3.3. PROGRAMAS DE CONTROLE DE LV

Como relatado anteriormente, de acordo com o 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 encontradas prevalências superiores a 2%, um inquérito censitário (contemplando 100% da população canina) que deverá ser repetido por três anos consecutivos (BRASIL, 2006). Os testes diagnósticos DPP e ELISA são realizados em série e os cães reagentes são eutanasiados (BRASIL, 2006). O bairro Dutra esteve sob estrita vigência do PVCLV entre os tempos T1 e T2. Entre os tempos T2 e T3, todas as ações previstas para o controle da LV foram mantidas excetuando-se a eutanásia compulsória dos animais detectados sororreativos. Entre os tempos T2 e T3, os cães sororreativos foram encoleirados com coleiras comerciais impregnadas com deltametrina a 4% (SCALIBOR®, MSD Saúde Animal Brasil), os tutores foram instruídos, no momento do encoleiramento, sobre o prognóstico da doença e para que buscassem auxílio do CCZ para qualquer dúvida quanto ao uso do dispositivo e quanto à decisão para realizar a eutanásia do animal, quando julgassem necessário.

Para fins de cálculo de prevalência e de incidência, considerou-se infectado todo o cão que fosse soropositivo por DPP e assim confirmado por ELISA. Cães soropositivos por DPP e negativos por ELISA foram considerados não infectados. Porém a decisão pelo encoleiramento foi tomada exclusivamente pelo conhecimento do estado sorológico determinado pelo DPP. Assim, todo cão DPP positivo em T2 foi encoleirado. Essa decisão foi tomada para que o início da aplicação da medida ocorresse de forma mais ágil.

3.4. MEDIDAS DE FREQUÊNCIA E DE RISCO

A prevalência da sororreatividade para LV foi calculada considerando todos os animais amostrados, para cada um dos tempos, T1, T2 e T3. Os valores foram comparados entre si por testes de qui quadrado. Os intervalos de confianças das proporções foram

calculados para todos os casos. Os cálculos foram realizados com auxílio do programa Epi Info™ 7 (disponível em https://www.cdc.gov/epiinfo/por/pt_index.html).

Para as estimativas de risco relativo, considerou-se a razão entre as taxas de incidência de sororreatividade da população de animais amostrados entre os tempos T1 e T2 e da população amostrada entre T2 e T3. A taxa de incidência ou taxa animal-tempo é uma medida de incidência que incorpora o tempo diretamente no denominador. Nesta medida, o numerador indica o número de casos novos no período, enquanto o denominador registra a somatória do tempo total que cada animal esteve em risco e sendo observado para o evento, ou seja a somatória do tempo de sobrevivência de todos os animais participantes. Assumiu-se que casos novos de diagnósticos LV contribuíram com um tempo 50% inferior aos casos negativos. Riscos relativos e respectivos intervalos de confiança 95% foram calculados com estimador de máxima verossimilhança da razão de taxas (Martin, Austin, 1991; 1996) com auxílio do programa Epi Info™ 7.

Em todos os casos, significância estatística foi considerada para valores de $p < 0,05$.

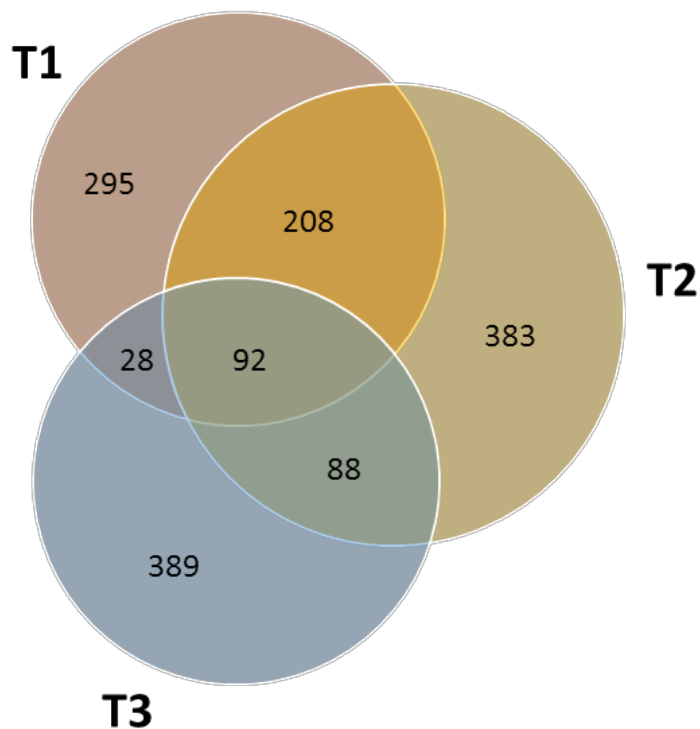
3.5. ASPECTOS ÉTICOS

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUAVet) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, protocolo 4785030122.

4. RESULTADOS

Nos tempos T1, T2 e T3, foram amostrados, respectivamente, 623, 771 e 597 cães. Nem todos os cães amostrados em um dado tempo puderam ser amostrados novamente no tempo imediatamente posterior. O gráfico representado na Figura 3 mostra os números de cães que foram amostrados nos três tempos. As intersecções entre os círculos mostram os números de cães reamostrados entre um tempo e outro.

Figura 3 - Diagrama de Venn para os números de cães amostrados nos tempos T1, T2 e T3



T1: cães amostrados em junho de 2018. T2: cães amostrados em maio de 2019. T3: cães amostrados em outubro de 2021. Fonte Valery, B.M. (2022).

A prevalência de reatividade sorológica dos cães amostrados nos três tempos foi calculada e nenhum dos valores apresentou diferença significativa. Os valores de prevalência de sororreatividade estão dispostos na Tabela 1.

Tabela 1 - Prevalência da sororreatividade dos cães para LV nos três tempos de amostragem.

Tempo da amostragem	Total de animais sororreagentes	Total de animais analisados	Prevalência (P%)	Limites IC (P%) 95%
T1	60	623	9,63%	7,56%; 12,20%
T2	81	771	10,51%	8,53%; 12,87%
T3	64	597	10,72%	8,48%; 13,46%

T1: cães amostrados em junho de 2018. T2: cães amostrados em maio de 2019. T3: cães amostrados em outubro de 2021. A diferença entre os valores de prevalência não foi estatisticamente significativa. Fonte Valery, B.M. (2022).

O inquérito sorológico realizado em T2 revelou 96 animais soropositivos por DPP. Um mês após o inquérito, em junho de 2019, estes animais foram revisitados para a aplicação das coleiras, mas apenas 92 foram efetivamente encoleirados já que 4 animais haviam sido eliminados entre o momento do diagnóstico e o retorno para o encoleiramento. Depois, estes animais foram revisitados periodicamente para a troca de coleiras em dezembro de 2019, em junho de 2020, em novembro de 2020, em junho de 2021 e em dezembro de 2021. Nestas ocasiões, os dados de número de animais encontrados com coleira, número de animais encontrados sem coleira, número de animais mortos e número de animais não encontrados por motivo de mudança do tutor ou por casa fechada foram registrados. Estes dados encontram-se sumarizados na Tabela 2.

Tabela 2 – Estado dos cães soropositivos nas diversas revisitas realizadas para a troca de coleira.

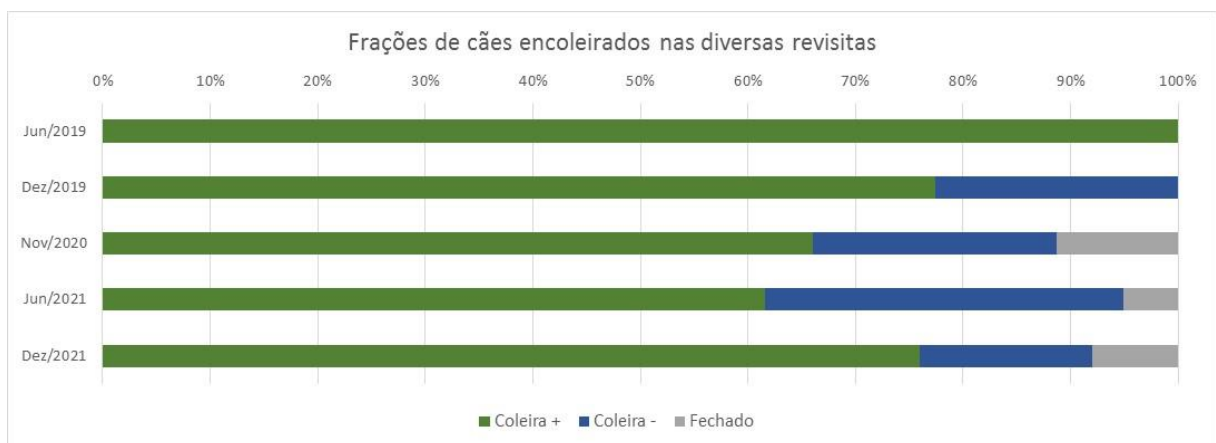
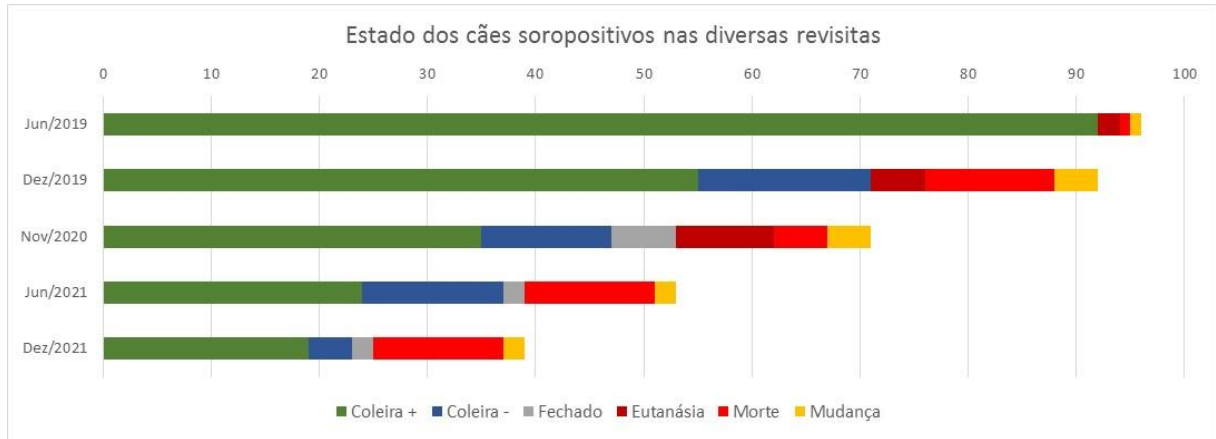
Data da Coleira	Coleira - Fechado	Eutanásia	Morte	Mudança	Total
------------------------	--------------------------	------------------	--------------	----------------	--------------

revisita		+					
Jun/2019	92	0	0	2	1	1	96
Dez/2019	55	16	0	5	12	4	92
Nov/2020	35	12	6	9	5	4	71
Jun/2021	24	13	2	0	12	2	53
Dez/2021	19	4	2	0	12	2	39

Coleira +: cães encontrados portando coleira. Coleira -: cães encontrados sem coleira. Fechado: casa fechada. Eutanásia: cães que foram eutanasiados por iniciativa do tutor. Morte: cães mortos, segundo informação obtida com o tutor. Mudança: Cães não encontrados por motivo de mudança de endereço do tutor. Fonte Valery, B.M. (2022).

Perdas de animais encoleirados ocorreram ao longo do período entre T2 e T3. Em dezembro de 2019, 77,5% dos animais soropositivos sobreviventes estavam encoleirados. Esta fração reduziu para 66,0% em novembro de 2020 e depois para 61,5% em junho de 2021. A participação de cães encoleirados entre os soropositivos sobreviventes volta subir em dezembro de 2021, alcançando 76,0%. Porém, nesta data apenas 25 animais soropositivos ainda restavam. A dinâmica da população de cães soropositivos registrada entre junho de 2019 e dezembro de 2021 está ilustrada nos gráficos disponíveis na figura 4.

Figura 4 – Dinâmica da população de cães soropositivos no bairro Dutra, Bauru, SP, registrada entre junho de 2019 e dezembro de 2021.



Coleira +: cães encontrados portando coleira. Coleira -: cães encontrados sem coleira. Fechado: casa fechada. Eutanásia: cães que foram eutanasiados por iniciativa do tutor. Morte: cães mortos, segundo informação obtida com o tutor. Mudança: cães não encontrados por motivo de mudança de endereço do tutor. Fonte Valery, B.M. (2022).

A incidência de sororreatividade para LV em cães no bairro Dutra foi calculada com três abordagens. Na primeira delas, animais elegíveis para o estudo foram acompanhados entre T1 e T2 e depois, nova coorte foi acompanhada entre T2 e T3. Na primeira coorte, participaram 276 animais e na segunda, 170 (coortes móveis). Na segunda abordagem, foram estudados apenas os animais que foram amostrados nos três tempos, o que compreendeu um número de 90 animais entre T1 e T2 e depois, 89 animais entre T2 e T3 (coortes fixas).

De acordo com os cálculos realizados com a primeira abordagem, o risco para reatividade sorológica na amostragem estudada entre T1 e T2 foi maior que aquele na amostragem entre T2 e T3, mas situação inversa foi observada quando o risco relativo foi calculado em estudo de coorte fixa. A Tabela 2 mostra os resultados das análises de

estimativas de risco relativo dos animais entre os tempos T1 e T2 e T2 e T3. Em ambas as análises, o intervalo de confiança 95% contém o valor 1.

Tabela 2 - Estimativas de risco relativo para reatividade sorológica entre períodos T1-T2 (entre junho de 2018 e maio de 2019) e T2-T3 (entre maio de 2019 e outubro de 2021).

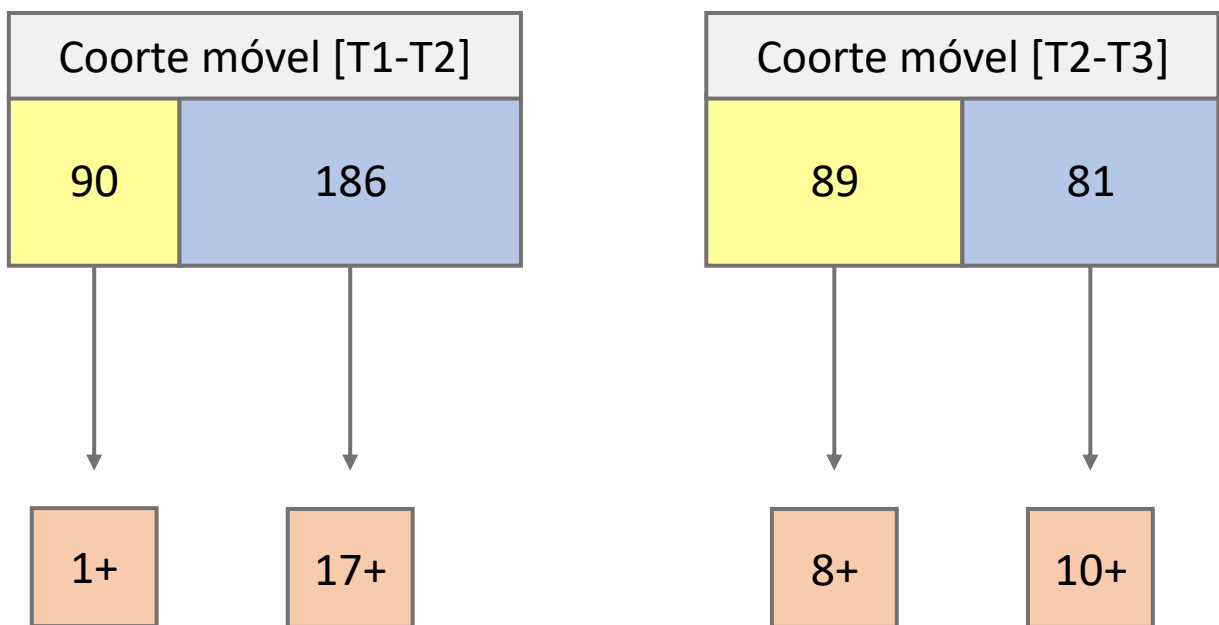
Período de avaliação ¹	Total de animais participantes	Total de casos	Cães-mês	RR ²	Limites IC 95%
Coortes móveis					
T1-T2	276	18	2937	1,5215	0,7822; 2,9598
T2-T3	170	18	4469		
Coortes fixas					
T1-T2	90	1	984,5	0,3132	0,0140; 1,9616
T2-T3	89	8	2465		

¹T1-T2: período entre junho de 2018 e maio de 2019. T2-T3: período entre maio de 2019 e outubro. ²RR; risco relativo calculado com estimador de máxima verossimilhança da razão de taxas (Martin, Austin, 1991, 1996). RR da população T1-T2 em relação à população em T2-T3. Fonte: Valery, B.M. (2022).

Dos 92 animais que foram observados nos três tempos, 90 foram soronegativos em T1 e destes, 1 soroconverteu em T2, enquanto 89 permaneceram soronegativos. Destes 89 soronegativos em T2, 8 soroconverteram em T3. As coortes fixas foram formadas exclusivamente por estes animais.

A coorte móvel [T1-T2] foi composta pelos 90 animais que participaram em T1, T2 e T3 mais 186 cães que participaram apenas em T1 e T2, totalizando 276 soronegativos em T1. Daqueles 186 animais, 17 soroconverteram em T2. A coorte móvel [T2-T3] foi composta por 89 animais que participaram em T1, T2 e T3 mais 81 cães que participaram apenas em T2 e T3, totalizando 170 soronegativos em T2. Daqueles 81 animais, 10 soroconverteram em T2. O infográfico na Figura 4 resume este recorte das coortes móveis, onde os dados provenientes dos animais que foram amostrados nos três tempos foram separados dos demais.

Figura 4 - Compartimentalização das coorte móveis.



As coortes móveis [T1-T2] e [T2-T3] foram formadas por cães que participaram em todos os tempos (caixas amarelas) e por cães que participaram apenas em T1 e T2 ou em T2 e T3 (caixas azuis). As caixas vermelhas contêm os números de animais que soroconverteram, em cada compartimento. Fonte: Valery, B.M. (2022).

A terceira abordagem para cálculo de risco relativo considerou-se excluir os animais que participaram de todos os tempos, o que correspondeu a 90 animais excluídos da coorte móvel [T1-T2] e 89 animais da coorte móvel [T2-T3]. Nestas condições, o risco para soroconversão para LV no período [T1-T2] foi cerca de 1,9 vezes superior ao risco no período

seguinte. A Tabela 3 resume os valores de análise de risco para este recorte das coortes móveis.

Tabela 3 - Estimativas de risco relativo para reatividade sorológica entre períodos T1-T2 (entre junho de 2018 e maio de 2019) e T2-T3 (entre maio de 2019 e outubro de 2021) com exclusão dos animais que permaneceram em todo o estudo.

Período de avaliação ¹	Total de animais participantes	Total de casos	Cães-mês	RR ²	Limites IC 95%
Coortes móveis					
T1-T2	186	17	1952,5	1,919	0,8815; 4,357
T2-T3	81	10	2204		

¹T1-T2: período entre junho de 2018 e maio de 2019. T2-T3: período entre maio de 2019 e outubro. ²RR; risco relativo calculado com estimador de máxima verossimilhança da razão de taxas (Martin, Austin, 1991, 1996). RR da população T1-T2 em relação à população em T2-T3. Fonte: Valery, B.M. (2022).

5. DISCUSSÃO

Neste trabalho, foi avaliada uma medida alternativa à eutanásia de cães para ser implementada em programa de controle de LV. Até a data em que as análises desta investigação foram concluídas, o PVCLV previa a eliminação de cães infectados por meio de eutanásia (BRASIL, 2006). A população de cães avaliada neste estudo é proveniente de um bairro da cidade de Bauru, SP, que vinha sendo submetida ao PVCLV até o ano de 2019. A partir de então, cães deixaram de ser eutanasiados compulsoriamente após diagnóstico sorológico positivo, pois a eutanásia foi substituída pelo encoleiramento com coleiras impregnadas com deltametrina. A hipótese para este estudo é que mosquitos transmissores da LV parasitariam os animais soropositivos e encoleirados com menor frequência, em razão do efeito repelente do fármaco impregnado na coleira. Também, o efeito inseticida do fármaco contribuiria para reduzir a população de mosquitos que fizessem repasto em cães encoleirados. Ambos os efeitos da coleira, em teoria, deveriam contribuir para diminuir a transmissão da doença na população canina.

O efeito desta medida alternativa foi avaliado pela comparação entre as taxas de incidência da LV em cães no bairro antes e depois do encoleiramento dos cães soropositivos para LV. A taxa de incidência ou taxa animal-tempo é uma medida de incidência que incorpora o tempo diretamente no denominador. O numerador da taxa de incidência é o número de novos casos identificados durante o período de observação enquanto o denominador é a soma do tempo em que cada indivíduo esteve sob observação. (MARTIN, AUSTIN, 1991; 1996). Este estudo contemplou dados coletados no início no mês de junho de 2018, quando inquérito sorológico censitário foi realizado. Deste tempo até o mês de maio de 2019, o bairro esteve sob vigência do PVCLV (BRASIL, 2006), quando então novo inquérito sorológico foi realizado, os animais detectados soropositivos foram encoleirados e o bairro passou a contar com a medida alternativa de controle. Novo inquérito estaria previsto para ocorrer na metade do ano de 2020, mas em razão da pandemia COVID-19, inquéritos sorológicos censitários foram adiados. Um novo inquérito censitário no bairro só foi possível nos meses de setembro e outubro de 2021, quando o panorama epidemiológico da COVID-19

tornou-se mais favorável para o agendamento de trabalhos presenciais. Assim, como os períodos de observação antes e depois do encoleiramento foram muito diferentes, optou-se por avaliar a efetividade do encoleiramento por meio de comparação entre taxas de incidência de acordo com Martin, Austin (1991; 1996).

Estudos de modelagem matemática de infecções mostraram que o encoleiramento de cães com coleiras impregnadas com inseticidas são métodos promissores para o controle da LV (RIBAS et al. 2013; SEVÁ et al. 2016) e sua eficácia em situação de campo vem sendo comprovada por diversos estudos no Brasil e em outras partes do mundo, mesmo que com resultados bastante variáveis (MAROLI et al., 2001; GAVGANI et al., 2002; REITHINGER et al., 2004; FOGLIA-MANZILLO et al., 2006; FERROGLIO et al., 2008; OTRANTO et al., 2013; BRIANTI et al., 2014; BRIANTI et al., 2016; COURA-VITAL et al., 2018; KAZIMOTO et al., 2018; LEITE et al., 2018; LOPES et al., 2018; COURTENAY et al., 2019; SILVA et al., 2019; ALVES et al., 2020; DE CAMARGO-NEVES et al., 2021).

Entretanto, a estratégia de uso da coleira impregnada com inseticidas neste estudo é nova, já que em todos os estudos publicados até o momento, exceto no de Cortez, (2022) comentado a seguir, foi avaliado o efeito de proteção contra LV com o encoleiramento de todos os cães sob risco. No Brasil, todos os estudos sobre avaliação de eficácia de coleira foram realizados, assim como no presente estudo, com dispositivos impregnados com deltametrina (REITHINGER et al., 2004; COURA-VITAL et al., 2018; KAZIMOTO et al., 2018; LEITE et al., 2018; LOPES et al., 2018; COURTENAY et al., 2019; SILVA et al., 2019; ALVES et al., 2020; DE CAMARGO-NEVES et al., 2021), sendo que, na maioria dos casos, a eficácia do procedimento superou a eficácia do encoleiramento estratégico adotado no bairro Dutra, Bauru, SP.

Cortez (2022) avaliou a efetividade do encoleiramento exclusivo de cães de soropositivos em relação ao programa convencional PVCLV em dois bairros de Bauru, SP, entre os anos de 2018 e 2019 e demonstrou que o encoleiramento foi mais efetivo na redução da soropositividade dos cães, pois o risco para reatividade sorológica no bairro onde a eutanásia foi praticada como método de controle foi até 4 vezes superior que o risco no bairro onde se praticou o encoleiramento de soropositivos. O efeito de proteção do encoleiramento estratégico de soropositivos registrado no estudo de Cortez (2022) foi mais evidente do que o efeito observado neste estudo e uma das razões para esta diferença poderia estar associada ao período menor de observação de efeito do encoleiramento adotado no trabalho de Cortez

(2022), que durou cerca de 200 dias, um período bem inferior aos 29 meses adotados neste estudo. No bairro Dutra, um novo inquérito sorodiagnóstico deveria ter sido realizado entre T2 e T3 para registrar e encoleirar novos soropositivos eventualmente detectados. Isto não ocorreu em razão das restrições impostas pelo período de pandemia COVID 19.

Em estudo com encoleiramento total realizado em Juatuba, MG (FERREIRA E SILVA et al., 2019), os autores avaliaram duas populações caninas, uma com mais de 1000 animais (encoleirados) e outra com cerca de 600 cães (controle), por um período de 6 meses, quando verificaram um risco para soroconversão 3,3 vezes maior para os animais não encoleirados. As prevalências sorológicas da LV nas populações controle e encoleiradas foram de 7,1 e 4,4%, respectivamente, o que levou os autores a aplicar correção para o cálculo de incidência, considerando que a probabilidade *a priori* de infecção era maior no grupo controle.

Níveis de proteções mais modestos para o encoleiramento total da população foram encontrados por outros autores (KAZIMOTO et al., 2018; LEITE et al., 2018, COURAVITAL et al., 2018 e ALVES et al., 2020). Em Montes Claros, MG, foi conduzido um estudo de coorte em duas áreas, sendo uma sob encoleiramento total dos animais com coleira impregnada com deltametrina e outra sob vigência do PVCLV (ALVES et al., 2020). Ambas as áreas tinham prevalências sorológicas para LV similares (9,7-9,9%). Cerca de 20.000 animais participaram do estudo, que se iniciou com mais de 9.000 animais soronegativos e teve um período de observação de dois anos. Por meio de regressão logística multivariada, os autores constataram um risco para LV 2,1 vezes superior no bairro controle. Ainda em MG, em Governador Valadares, outro estudo não randomizado foi realizado com dois grupos de cerca de 1000 cães cada, mas com prevalência de cerca de 20% nos dois grupos. O risco para conversão sorológica no grupo de cães não encoleirados foi 1,5 vezes superior ao risco para cães encoleirados (COURA-VITAL et al., 2018). Em Camaçari, BA, 193 cães não encoleirados apresentaram risco 1,8 superior para soroconversão para LV em relação aos 378 cães encoleirados (LEITE et al. 2018), enquanto em Mossoró, RN, uma coorte controle composta por 524 animais apresentou o dobro do risco de soroconversão da coorte de 478 cães encoleirados (KAZIMOTO et al., 2018).

Os resultados dos estudos mencionados acima puderam ser comparados com os resultados obtidos no bairro Dutra, porque, em todos os casos, a incidência da LV em cães foi inferida por meio de conversão sorológica diagnosticada pelos testes DPP e ELISA aplicados

em série. Estes testes sorodiagnósticos são *kits* produzidos, em todos os casos, pelo mesmo fabricante. Assim, assume-se que a acurácia do diagnóstico empregado é virtualmente a mesma em todos os estudos. Ainda como mencionado anteriormente, estes estudos avaliaram o uso de coleiras impregnadas com deltametrina, sendo todas, mais uma vez, provenientes do mesmo fabricante. Outros estudos de semelhante escopo realizados no Brasil (LOPES et al. 2018; COURTENAY et al., 2019) empregaram métodos moleculares para diagnóstico da infecção, o que pode modificar a acurácia da detecção do evento sob investigação (incidência de infecção). O método diagnóstico usado para a determinação da incidência nos grupos sob risco e sob proteção parece ter sido uma das razões pela qual as coleiras impregnadas com flumethrin-imidacloprid conferiram melhor proteção que aquelas impregnadas com deltametrina, como pode ser depreendido de um estudo de meta-análise em que os autores compilaram os resultados de avaliação de eficácia de coleira de 14 estudos conduzidos em diversos países (YIMAN).

Um problema recorrente em estudos prospectivos para avaliação de eficácia de métodos de controle para LV em cães são as perdas de acompanhamento de animais ocorrentes entre inquéritos consecutivos (LOPES et al., 2018). Nestes estudos, os inquéritos posteriores são tipicamente compostos por animais que não foram prospectados nos inquéritos anteriores. Em inquéritos com apenas 6 meses de interregno, Ferreira e Silva et al. (2019) registraram 48% de perdas, Coura-Vital et al. (2018) registraram 18 e 25% de perdas nas duas intervenções que empreenderam, enquanto 34 e 40% de perdas de acompanhamentos ocorreram entre as intervenções realizadas no estudo de Leite et al. (2018). No presente estudo, as perdas de acompanhamento foram ainda mais expressivas, de 51% entre a primeira e a segunda intervenção e de 76% entre a segunda e a terceira. A magnitude das perdas de acompanhamento de animais observadas neste estudo certamente é devida ao maior interregno de tempo que foi adotado entre as intervenções, sendo 11 meses para o primeiro interregno e de 29 meses para o segundo. Não é possível assumir que a perda de acompanhamento de cães ocorra de forma linear ao longo do tempo, por isso estes dados de perdas não puderam ser normalizados em relação aos dados registrados por outros autores. Nesta investigação, empregou-se os dados coletados pela equipe oficial da prefeitura do município. Uma medida que poderia auxiliar na quantificação das perdas de acompanhamento seria o registro das residências visitadas sem sucesso. Neste caso a perda por morte de animais ou por ausência do tutor poderiam ser melhor discriminadas.

Três abordagens concorreram para aferir os riscos para LV no bairro Dutra, uma baseada em avaliação de uma coorte fixa e duas com coorte móvel. Comparada à coorte fixa, a coorte móvel acomodou um número superior de animais participantes e a estimativa de risco relativo mostrou uma tendência de proteção para o bairro onde os animais foram encoleirados. Por outro lado, na análise dos dados de coorte fixa, a conclusão sobre a eficácia do encoleiramento na redução da sororeatividade foi inversa ao que se observou com a coorte móvel, já que o risco para sororeatividade no primeiro período de observação foi menor que o risco no segundo período. Porém, neste caso, é notável que o IC95% foi bastante amplo, o que pode ser devido ao pequeno número de animais observados, corrompendo a precisão da estimativa. Outra interpretação para os resultados obtidos com a coorte fixa seria pelo longo período de exposição dos 90 animais desta coorte, que foram observados por um período total de 3 anos. No estudo de coorte móvel, 47,6% dos animais entraram no estudo em T2, sendo observados por 2 anos. É importante lembrar que este estudo prospectivo ocorreu com a mesma população, observada ao longo de 3 anos. No primeiro período observacional (T1-T2) os animais estiveram sob risco por 1 ano, enquanto em um período imediatamente posterior (T2-T3), os animais estiveram sob suposta medida de proteção pelos 2 anos seguintes. Assim, um cão que tenha entrado no experimento em T1, no início do experimento, e durou até T3, teria um período bem maior de exposição do que um cão que tenha entrado em T2. É plausível supor que parte expressiva dos soropositivos em T3 da coorte fixa entraram em T1 adquiriram a infecção em T1-T2, mas vieram a soroconverter apenas em T2-T3. E de fato, pelo estudo dos recortes da coorte móvel, é possível notar que a incidência em [T1-T2] nos animais que permaneceram em T1, T2 e T3 foi significativamente menor do que a incidência nos demais animais do mesmo período. Por outro lado, esta diferença não se verificou para o período [T2-T3].

Os resultados apontados neste estudo estão em consonância ao estudo de Cortez 2022 e forneceram evidências de que o encoleiramento estratégico de soropositivos, na forma com que o procedimento foi realizado, é uma medida eficaz, porém ainda parece haver espaço para aperfeiçoamentos da proposta. O uso do encoleiramento estratégico, se aliado com ferramentas de informação atuais, como o uso de aplicativos para conectar mais rapidamente o munícipe e o órgão oficial, poderia agilizar a identificação de animais soropositivos, facilitar a troca de coleiras quando necessário e até mesmo a eutanásia voluntária dos animais, quando o tutor entender que seja necessário. O encoleiramento estratégico de soropositivos é uma medida que aproxima o poder público e o munícipe, ao contrário da eutanásia

compulsória, e isto tem grande potencial para aumentar colaboração da população para o controle da LV.

Outra vantagem do encoleiramento estratégico de soropositivos é que todo o procedimento poderia ser conduzido apenas com o emprego da prova de DPP. Diferentemente do método de eutanásia, em que se exige prova por DPP e confirmação por ELISA, a decisão pelo encoleiramento pode ser feita somente com os resultados obtidos com o DPP, uma prova rápida e que pode ser realizado no próprio local de coleta o que permite agilizar sobremaneira o processo de tomada de decisão para a ação de controle.

O encoleiramento total da população canina, além de se constituir uma medida com eficácia satisfatória mostrou-se um procedimento com custo-efetividade adequado (Assis et al., 2020). Entretanto, esta medida não está livre de importantes dificuldades operacionais, principalmente em virtude da perda de acompanhamento de animais encoleirados e perda das coleiras durante os períodos de observação. Alves et al. (2018) registraram perdas de 56% de coleiras em um ano de observação, e também notificaram que 36,9% dos cães não foram encontrados entre dois ciclos de observação consecutivos, de forma que o uso em massa de coleiras impregnadas pode ser muito suscetível a desperdício.

Outro fator relevante que pode justificar o uso estratégico do encoleiramento seria para reduzir a pressão para seleção de resistência à antiparasitários em populações de mosquitos transmissores da LV, que no Brasil são representados principalmente por insetos flebotomíneos do gênero *Lutzomyia*.

Ainda não existem evidências de populações de flebotomíneos resistentes a antiparasitários, mas já em 2009, registrou-se pela primeira vez no Brasil, suscetibilidade significativamente reduzida aos inseticidas usados no controle de populações selvagens de *Lu. longipalpis*, quando pesquisadores verificaram duas populações de mosquitos flebotomíneos com diferentes suscetibilidades a piretróides e organofosforados, duas classes farmacológicas amplamente empregadas no controle ambiental de artrópodes (ALEXANDER et al., 2009). Em estudo mais recente, González et al. (2019) observaram um discreto aumento no tempo de *knockdown* frente a desafios por piretróides em populações de mosquito que foram continuamente expostas à esta classe farmacológica, mas que nas condições do experimento, não pareceu ter selecionado insetos resistentes. Porém, esta é uma questão que deve ser tratada com cuidado, pois os animadores resultados de estudos de eficácia do encoleiramento

podem acarretar o emprego indiscriminado e massivo de coleira no território brasileiro produzindo consequências importantes a longo prazo, em especial em se tratando de populações de mosquitos de grandes áreas urbanas, que teriam os cães como hospedeiros majoritários. Nesse sentido, são bem-vindos estudos sobre uso estratégico do encoleiramento, com vistas a formular protocolos que permitam impedir ou ao menos retardar a seleção de resistência antiparasitária.

6. CONCLUSÕES

O encoleiramento canino é de fato uma medida mais aceita pela população quando comparada a eutanásia compulsória de cães soropositivos, o que aumenta as chances de sucesso como possível medida de controle da doença.

Apesar do elevado número de coleiras perdidas durante o período de estudo, o encoleiramento estratégico de cães soropositivos diminuiu o risco de reatividade sorológica, podendo ser uma medida efetiva para o controle de LV em áreas endêmicas.

Além da perda de coleiras, outro obstáculo enfrentado durante o trabalho foi a perda de acompanhamento dos animais encoleirados e uma das causas foi a ausência do tutor no momento da visita à residência.

Uma possível estratégia para minimizar essas perdas é a criação de um aplicativo para os tutores terem contato direto com o CCZ, informando quando houver perda de coleiras para serem substituídas e também possibilitar o agendamento das visitas domiciliares. Além disso, o aplicativo seria uma boa ferramenta epidemiológica, mapeando as áreas endêmicas de LV.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIRRE, A. A. Wild canids as sentinels of ecological health: A conservation medicine perspective. **Parasites and Vectors**, v. 2, n. SUPPL.1, p. 1–8, 2009.
- ALEXANDER, B. et al. Susceptibility to chemical insecticides of two Brazilian populations of the visceral leishmaniasis vector *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). **Tropical Medicine and International Health**, v. 14, n. 10, p. 1272–1277, 2009.
- ALVES, E. B. et al. Dificuldades operacionais no uso de coleiras caninas impregnadas com inseticida para o controle da leishmaniose visceral, Montes Claros, MG, 2012. **Epidemiologia e serviços de saúde : revista do Sistema Unico de Saúde do Brasil**, v. 27, n. 4, p. e2017469, 2018.
- ALVES, E. B. et al. Effectiveness of insecticide-impregnated collars for the control of canine visceral leishmaniasis. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 182, n. March, p. 105104, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.105104>>.
- ASSIS, T. M. de et al. 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, n. October, p. e20200680, 2020.
- BECK, A. et al. A case of visceral leishmaniosis in a gray wolf (*Canis lupus*) from Croatia. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 44, n. 2, p. 451–456, 2008.
- BENCHIMOL, J. L.; JOGAS JUNIOR, D. G.; Uma história das leishmanioses no Novo Mundo: fins do século XIX aos anos 1960. Rio de Janeiro, Fiocruz, 2020 < DOI: <https://doi.org/10.7476/9786557080207>>.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), 2014. Nota Técnica Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/publicacoes-svs/leishmaniose/7-nota-tecnica-mapa-_-n-038-2014-dfip-sda> Acesso em: 02 de Setembro de 2022 às 16:23.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Nota Técnica Nº 11/2016 - MAPA. **Cpv/Dfip/Sda/Gm/Mapa - Ministério da Agricultura**, v. 11, n. 0923759, p. 19–20, 2016.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral, **Editora do Ministério da Saúde**. Brasília – DF; 2006. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmaniose_viscer_al.pdf> Acesso em: 12 mar. 2019.

BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Imunização e Doenças Transmissíveis, Coordenação-Geral de Vigilância de Zoonoses e Doenças de Transmissão Vetorial. NOTA TÉCNICA No 5/2021-CGZV/DEIDT/SVS/MS. Brasília - DF; 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/l/leishmaniose-visceral/arquivos/sei_ms-nota-tecnica-n-5_leishpdf.pdf> Acesso em: 15 set. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Situação epidemiológica de Leishmaniose Visceral no Brasil. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/l/leishmaniose-visceral/situacao-epidemiologica-da-leishmaniose-visceral>> Acesso em: 10 de Julho de 2022 às 10:42.

BRIANTI, E. et al. Efficacy of a slow-release imidacloprid (10%)/flumethrin (4.5%) collar for the prevention of canine leishmaniosis. **Parasites and Vectors**, v. 7, n. 1, p. 1–10, 2014.

BRIANTI, E. et al. Field Evaluation of Two Different Treatment Approaches and Their Ability to Control Fleas and Prevent Canine Leishmaniosis in a Highly Endemic Area. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 9, p. 1–13, 2016.

CAMARGO, L. B.; LANGONI, H. Impact of leishmaniasis on public health. **Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, v. 12, n. 4, p. 527–548, 2006.

CEVA SAÚDE ANIMAL. LeishTec. Disponível em: <<https://www.ceva.com.br/Produtos/Lista-de-Produtos/LEISH-TEC>> Acesso em: 07 de Setembro de 2022.

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**. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

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.

COURA-VITAL, W. et al. Effectiveness of deltamethrin-impregnated dog collars on the incidence of canine infection by *Leishmania infantum*: A large scale intervention study in an endemic area in Brazil. **PLoS ONE**, v. 13, n. 12, p. 1–17, 2018.

COURTENAY, O. et al. Infectiousness in a cohort of Brazilian dogs: Why culling fails to control visceral leishmaniasis in areas of high transmission. *Journal of Infectious Diseases*. 2002.

COURTENAY, O. et al. 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, p. 1–19, 2019.

DA SILVA, S. M. et al. First report of infection of *Lutzomyia longipalpis* by *Leishmania (Leishmania) infantum* from a naturally infected cat of Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 174, n. 1–2, p. 150–154, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.08.005>>.

DAVID, J. R. et al. 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, n. 6, p. 839–847, 2001.

DE ALBUQUERQUE LUNA, E. J.; DE SOUZA LEÃO DA COSTA CAMPOS, S. R. Vaccine development against neglected tropical diseases. **Cadernos de Saude Publica**, v. 36, 2020.

DE ARAÚJO, V. Mixed infection in the anteater *Tamandua tetradactyla* (Mammalia: Pilosa) from Pará State, Brazil: *Trypanosoma cruzi*, *T. rangeli* and *Leishmania infantum*. **Parasitology**, v. 140, n. 04, p. 455–460, 2012.

DE CAMARGO-NEVES, V. et al. Control of Canine Visceral Leishmaniasis: A Success Case Based on Deltamethrin 4% Collars. **Epidemiologia**, v. 2, n. 4, p. 502–518, 2021.

DE CAMPOS, M. P. et al. Vacinas anti-leishmaniose visceral canina podem interferir no diagnóstico sorológico preconizado pelo Ministério da Saúde brasileiro? **Ciencia Rural**, v. 47, n. 4, p. 1–6, 2017.

DE CARVALHO, M. R. et al. Natural *Leishmania infantum* infection in *Migonemyia migonei* (França, 1920) (Diptera:Psychodidae:Phlebotominae) the putative vector of visceral leishmaniasis in Pernambuco State, Brazil. **Acta Tropica**, v. 116, n. 1, p. 108–110, 2010.

DESJEUX, P. Leishmaniasis: Current situation and new perspectives. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 27, n. 5, p. 305–318, 2004.

DOS SANTOS, S. O. et al. Incrimination of *Lutzomyia cruzi* as a vector of American Visceral Leishmaniasis. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 12, n. 3, p. 315–317, 1998.

FERNANDES, C. B., JUNIOR, J. T. M., JESUS, C., SOUZA, B. M. P. S., LARANGEIRA, D. F., FRAGA, D. B. M., BARROUIN-MELO, S. M. Comparison of two commercial vaccines against visceral leishmaniasis in dogs from endemic areas: IgG, and subclasses, parasitism, and parasite transmission by xenodiagnosis. **Vaccine**, 32(11):1287-1295, 2014.

FERREIRA E SILVA S.C.P., et al. Effectiveness of the mass use of deltamethrin-impregnated dog collars for preventing transmission of canine leishmaniasis by *Lutzomyia* spp.: A cluster randomized controlled trial. *Prev Vet Med.* 2019 Nov 1;171:104770. doi: 10.1016/j.prevetmed.2019.104770. Epub 2019 Sep 4. PMID: 31536935.

FERROGLIO, E.; POGGI, M.; TRISCIUOGLIO, A. Evaluation of 65% permethrin spot-on and deltamethrin-impregnated collars for canine *Leishmania infantum* infection prevention. **Zoonoses and Public Health**, v. 55, n. 3, p. 145–148, 2008.

FOGLIA MANZILLO, V. et al. 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, n. 1–2, p. 142–145, 2006.

GALATI, E. A. B. Estudo de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em foco de leishmaniose visceral no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Rev. Saúde Pública**. v.31, n.4, p.378-390, 1997.

GALVIS-OVALLOS, F. et al. Leishmanioses No Brasil: Aspectos Epidemiológicos, Desafios E Perspectivas. **Atualidades em Medicina Tropical no Brasil: Protozoários**, n. June, p. 227–255, 2020.

GAVGANI, A. S. et al. Effect of insecticide-impregnated dog collars on incidence of zoonotic visceral leishmaniasis in Iranian children: A matched-cluster randomised trial. **Lancet**, v. 360, n. 9330, p. 374–379, 2002.

GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, n. 3, p. 338–349, 2004.

GONZÁLEZ, M. A. et al. Susceptibility of wild-caught *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) sand flies to insecticide after an extended period of exposure in western São Paulo, Brazil. **Parasites and Vectors**, v. 12, n. 1, p. 1–9, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s13071-019-3364-4>>.

GRIMALDI G. JR. et al. (2017) Field trial of efficacy of the Leish-tec® vaccine against canine leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* in an endemic area with high transmission rates. **PLoS ONE** 12(9): e0185438. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185438>

GUERIN, P. J. et al. Malaria: Current status of control, diagnosis, treatment, and a proposed agenda for research and development. **Lancet Infectious Diseases**, v. 2, n. 9, p. 564–573, 2002.

HIRAMOTO, R. M. et al. Classificação epidemiológica dos municípios do Estado de São Paulo segundo o Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral , 2017 Epidemiological classification of the municipalities of the State of São Paulo according to the Visceral Leishma. v. 16, n. 182, p. 11–35, 2019.

KASPER, D. et al. Doenças Infecciosas de Harrison. **Artmed**. 2ª edição. p. 974-981. 2015

KAZIMOTO T. A. Impact of 4% Deltamethrin-Impregnated Dog Collars on the Prevalence and Incidence of Canine Visceral Leishmaniasis. **Vector Borne Zoonotic Dis**. Jul;18(7):356-363. doi: 10.1089/vbz.2017.2166. Epub 2018 Apr 23. PMID: 29683394, 2018.

LAINSON R, SHAW JJ. Biology and epidemiology: evolution, classification and geographical distribution. In: Peters W, Killick-Kendrick R, eds. **The Leishmaniasis in Biology and Medicine**, vol. 1. London: Academic Press, pp. 1–120, 1987.

LAINSON, R. The Neotropical *Leishmania* species: a brief historical review of their discovery, ecology and taxonomy. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 1, n. 2, p. 13–32, 2010.

LEITE, B. M. M. et al. The mass use of deltamethrin collars to control and prevent canine visceral leishmaniasis: A field effectiveness study in a highly endemic area. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 5, p. 1–19, 2018.

LOPES, E. G. et al. 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.

MAIA, C.; CAMPINO, L. Methods for diagnosis of canine leishmaniasis and immune response to infection. **Veterinary Parasitology**, v. 158, n. 4, p. 274–287, 2008.

MALTA, M. C. C. et al. Naturally acquired visceral leishmaniasis in non-human primates in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 169, n. 1–2, p. 193–197, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.12.016>>.

MAROLI, M. et al. 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, AUSTIN H. An efficient program for computing conditional maximum likelihood estimates and exact confidence limits for a common odds ratio. **Epidemiology**. Sep;2(5):359-62. doi: 10.1097/00001648-199109000-00008. PMID: 1742385, 1991.

MARTIN D., AUSTIN H. Exact estimates for a rate ratio. **Epidemiology**. Jan;7(1):29-33. doi: 10.1097/00001648-199601000-00006. PMID: 8664397, 1996.

MELLO, G. B. (1940). Verificação da infecção natural do gato (*Felix Domesticus*) por um protozoario do genero *Leishmania* . *Brasil Médico* 54, 180.

MOLINA, R. et al. The hare (*Lepus granatensis*) as potential sylvatic reservoir of *Leishmania*

infantum in Spain. **Veterinary Parasitology**, v. 190, n. 1–2, p. 268–271, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.05.006>>.

OTRANTO, D. et al. Prevention of Canine Leishmaniosis in a Hyper-Endemic Area Using a Combination of 10% Imidacloprid/4.5% Flumethrin. **PLoS ONE**, v. 8, n. 2, 2013.

PALATNIK-DE-SOUSA, C. B.; NICO, D. The Delay in the Licensing of Protozoal Vaccines: A Comparative History. **Frontiers in Immunology**, v. 11, n. March, p. 1–16, 2020.

PASTORINO, A. C. et al. Leishmaniose visceral: aspectos clínicos e laboratoriais. **Jornal de Pediatria**, v. 78, n. 2, p. 120–127, 2002.

PAULIN, S. et al. Laboratory assessment of the anti-feeding effect for up to 12 months of a slow release deltamethrin collar (Scalibor®) against the sand fly *Phlebotomus perniciosus* in dogs. **Parasites and Vectors**, v. 11, n. 1, p. 1–7, 2018.

PIRAJÁ, G. V. et al. Leishmaniose Felina- Revisão de Literatura. **Veterinária e Zootecnia**, v. 20, n. 2, p. 203–216, 2013.

QUINNELL, R. J.; COURTENAY, O. Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis. **Parasitology**, v. 136, n. 14, p. 1915–1934, 2009.

REITHINGER, R. et al. 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.

RIBAS, L. M. et al. Estimating the optimal control of zoonotic visceral leishmaniasis by the use of a mathematical model. **The Scientific World Journal**, v. 2013, 2013.

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.

RITA, D. E. S. (K-Othrine Ce) No Controle De *Lutzomyia Longipalpis* (Diptera : Psychodidae), No Município. v. 26, n. 1, p. 15–18, 1993.

SALOMÃO, R. Infectologia: Bases clínicas e tratamento / Reinaldo Salomão - 1. ed. - Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 2017. il. ISBN: 978-85-277-3261-1 1.

SANTIAGO, M. E. B. et al. An investigation of *Leishmania* spp. in *Didelphis* spp. from urban and peri-urban areas in Bauru (São Paulo, Brazil). **Veterinary Parasitology**, v. 150, n. 4, p. 283–290, 2007.

SAVANI, E. S. M. M. et al. The finding of *Lutzomyia almerioi* and *Lutzomyia longipalpis* naturally infected by *Leishmania* spp. in a cutaneous and canine visceral leishmaniasis focus in Serra da Bodoquena, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 160, n. 1–2, p. 18–24, 2009.

SEVÁ, A. P. et al. Canine-based strategies for prevention and control of visceral leishmaniasis in Brazil. **PLoS ONE**, v. 11, n. 7, p. 1–20, 2016.

SILVA, R. A. et al. Effectiveness of dog collars impregnated with 4% deltamethrin in controlling visceral leishmaniasis in *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) populations. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 113, n. 5, p. 1–9, 2018.

SILVA, S. C. P. F. e. et al. 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, n. August, p. 104770, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2019.104770>>.

SOUZA, G. D.; DOS SANTOS, E.; FILHO, J. D. A. The first report of the main vector of visceral leishmaniasis in America, *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 8, p. 1181–1182, 2009.

TOLEZANO, J. E. et al. The first records of *Leishmania* (*Leishmania*) *amazonensis* in dogs (*Canis familiaris*) diagnosed clinically as having canine visceral leishmaniasis from Araçatuba County, São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 149, n. 3–4, p. 280–284, 2007.

VELEZ, R.; GÁLLEGO, M. Commercially approved vaccines for canine leishmaniasis: a review of available data on their safety and efficacy. **Tropical Medicine and International Health**, v. 25, n. 5, p. 540–557, 2020.

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

WHO, 2017. WHO: Weekly epidemiological record: Global leishmaniasis update, 2006-2015, a turning point in leishmaniasis surveillance. World Health Organization. Disponível em: < https://www.who.int/leishmaniasis/resources/who_wer9238/en/> Acesso em: 14 mar. 2019.

WHO, 2019. WHO: Leishmaniasis < https://www.who.int/health-topics/leishmaniasis#tab=tab_1> Acesso em: 14 mar. 2019.

YIMAM, Y.; MOHEBALI, M. Effectiveness of insecticide-impregnated dog collars in reducing incidence rate of canine visceral leishmaniasis: A systematic review and meta-analysis. **PLoS ONE**, v. 15, n. 9 September 2020, p. 1–15, 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0238601>>.

ZAHID, M. H.; KRIBS, C. M. Impact of dogs with deltamethrin-impregnated collars on prevalence of visceral leishmaniasis. **Infectious Disease Modelling**, v. 5, p. 235–247, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.idm.2020.01.001>>.