

**ANÁLISE ESPACIAL E EPIDEMIOLÓGICA DOS CASOS DE LEISHMANIOSE
VISCERAL CANINA E HUMANA EM FOZ DO IGUAÇU, ENTRE OS ANOS DE 2015 E
2020**

LUCIANA CHIYO

**ANÁLISE ESPACIAL E EPIDEMIOLÓGICA DOS CASOS DE LEISHMANIOSE
VISCERAL CANINA E HUMANA EM FOZ DO IGUAÇU, ENTRE OS ANOS DE 2015 E
2020**

LUCIANA CHIYO

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências do Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza, da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Kelvinson Fernandes Viana

Foz do Iguaçu, Estado do Paraná
2022

LUCIANA CHIYO

**ANÁLISE ESPACIAL E EPIDEMIOLÓGICA DOS CASOS DE LEISHMANIOSE
VISCERAL CANINA E HUMANA EM FOZ DO IGUAÇU, ENTRE OS ANOS DE 2015 E
2020**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências do Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza, da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências.

BANCA EXAMINADORA

Dr(a). Kelvinson Fernandes Viana
Orientador(a)
UNILA

Dr(a). Flávio Luiz Tavares
Examinador(a)
UNILA

Dr(a). Silvia Cristina Osaki
Examinador(a)
UFPR

Foz do Iguaçu, Estado do Paraná, 30 de novembro de 2022.

Catálogo elaborado pelo Setor de Tratamento da Informação
Catálogo de Publicação na Fonte. UNILA - BIBLIOTECA LATINO-AMERICANA - PTI

C543a

Chiyo, Luciana.

Análise espacial e epidemiológica dos casos de Leishmaniose Visceral Canina e Humana em Foz do Iguaçu, entre os anos de 2015 e 2020 / Luciana Chiyo. - Foz do Iguaçu, 2022.
59 fls.: il.

Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza, Programa de Pós-Graduação em Biociências.

Orientador: Kelvinson Fernandes Viana.

1. Zoonoses. 2. Leishmaniose visceral - Fatores de risco. 3. Epidemiologia. I. Viana, Kelvinson Fernandes. II. Título.

CDU 616.937(816.2)

Dedico às memórias do meu saudoso irmão, Carlos Eduardo Chiyo, e do meu querido pai, Tokio Chiyo; e a todos os animais que sofrem, especialmente àqueles negligenciados por seus proprietários e que são sacrificados em nome da saúde pública.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço ao meu professor orientador, Dr. Kelvinson Fernandes Viana, pela orientação neste trabalho, e, sobretudo, pela sua amizade, paciência e compreensão. Obrigada por aceitar o desafio e a proposta de trabalhar com os meus dados.

Aos colegas de curso, especialmente àqueles que me incentivaram e estiveram “ao meu lado”, mesmo em tempos de pandemia. Aos professores do curso do PPGBC da UNILA.

Ao Erwin, incansável, solícito, e, sobretudo, muito paciente com todos os pós-graduandos: sem você, não conseguiríamos chegar ao final dessa jornada.

Aos meus colegas de trabalho, em especial aos colegas do Laboratório, Gislaiane da Luz e Rosinei Kafka, por todo o cuidado que tiveram na digitação da planilha durante anos, meu muito obrigada. Aos colegas Médicos Veterinários, André de Souza Leandro e Carlos Eduardo de Santi, pelo apoio técnico. À Alessandra Ferreira, Mayara Polhasto e Eva da Silva, por todo apoio operacional. Ao Sandro Galvão, obrigada por sempre ter algo bom e leve para conversar; a todos os demais colegas e amigos do CCZ; é impossível nomear a todos, meu mais sincero agradecimento.

À equipe da Vigilância Epidemiológica, por sempre acreditar em nosso trabalho e por me ajudar com os dados dos humanos.

À Dra. Anaiá da Paixão Sevá, pela ajuda na análise dos dados, por ter me recebido em sua casa e por tudo o que tem me ensinado, e à Sofia Bernal, pela ajuda na confecção dos mapas e pelas sugestões. Agradeço demais à Dra. Vanete Soccol, que me ensinou quase tudo o que eu sei sobre leishmaniose visceral.

Agradeço ao pessoal da SESA em Curitiba, na pessoa do Dr. Alceu Bisetto, essa pessoa incrível que, muito antes de 2012, sem sequer me conhecer, já me ajudava a investigar os casos suspeitos de leishmaniose visceral em cães.

Aos colegas do Ministério da Saúde, agradeço também pelo apoio técnico, que nunca nos faltou.

À Médica Veterinária Eliane Pozzolo, minha inspiração, uma das profissionais mais comprometidas que eu conheço, sempre generosa e disposta a ensinar, não tenho palavras pra agradecer! Muito obrigada!

Ao meu companheiro, Hipólito Caplan, por sempre ter me incentivado e me apoiado ao longo dos anos.

Por fim, enalteço a presença do Tinho e da Peks, minha família multiespécie, meu apoio emocional, minha dose diária de alegria.

*Se as coisas são inatingíveis... ora!
Não é motivo para não querê-las...
Que tristes os caminhos, se não fora a mágica
presença das estrelas!*

Mario Quintana

CHIYO, Luciana. 2022. **Análise espacial e epidemiológica dos casos de Leishmaniose Visceral Canina e Humana em Foz do Iguaçu, entre os anos de 2015 e 2020**. Orientadores: VIANA, Kelvinson Fernandes (orientador). 59 f. Dissertação (Mestrado) - PPG-BC (Programa de Pós-Graduação em Biociências), UNILA (Universidade Federal da Integração Latino-Americana), Foz do Iguaçu.

RESUMO

O estado do Paraná era considerado indene para a Leishmaniose Visceral (LV) até 2012. A partir daquele ano, esforços foram destinados a identificar o vetor e o reservatório doméstico desta zoonose no estado. O primeiro registro do flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis* (vetor), ocorreu em 2012, no município de Foz do Iguaçu, na região de fronteira com a Argentina e o Paraguai. Em 2013, foi notificado o primeiro caso canino da doença, e, em 2015, o primeiro caso humano. Comprovada a endemia, o Centro de Controle de Zoonoses (CCZ), órgão da Secretaria Municipal de Saúde, iniciou as ações para executar o Programa de Vigilância e Controle da LV, do Ministério da Saúde. Entre os anos de 2015 e 2020, 12.205 amostras de cães foram analisadas para o diagnóstico da doença. Foi encontrada uma prevalência de 37,94% (4.630 amostras): o ano com maior prevalência foi 2016, com 46,25%, e o ano com a menor prevalência, 2020, com 25,98%. Os casos humanos foram avaliados no mesmo período e a incidência acumulada foi de 1,39 casos/100 mil habitantes, sendo a maior incidência em homens, na faixa etária de 15 a 69 anos, com taxa de letalidade de 31,8%. Foram analisados possíveis fatores de risco para os cães, e os resultados obtidos foram: se a requisição do exame foi realizada pelo CCZ foi um fator protetor significativo, com menor prevalência (37,5%) do que os cães oriundos de clínicas particulares (OR de 0,89, valor de $p = 0,016$). Os machos apresentaram-se significativamente mais infectados do que as fêmeas, com 41,1% e 35,7% de positividade, respectivamente (OR = 1,24, $p < 0,0001$). Os cães de companhia e os sem raça definida (SRD) foram significativamente menos acometidos que os outros grupos testados (OR = 0,44, $p < 0,001$; OR = 0,79, $p = 0,012$, respectivamente). A cor escura da pelagem dos cães foi um fator de risco significativo com relação às outras categorias de cores, com 41,2% de positividade (OR = 1,21, $p = 0,002$). Os tamanhos de pelagem curto e mediano foram significativamente considerados fatores de risco, com 41,3% e 31,3% de positividade (OR = 2,01, $p < 0,001$; OR = 1,39, $p = 0,001$, respectivamente). Já os cães de pelo longo tiveram apenas 22,7% de positividade. Nas análises univariadas, os cães gigantes, grandes e médios foram significativamente mais acometidos que os de pequeno porte (OR = 1,50, $p = 0,003$; OR = 1,46, $p < 0,001$; OR = 1,66, $p < 0,001$, respectivamente). Os cães até quatro anos de idade foram significativamente menos acometidos que os das outras faixas etárias (OR = 0,30, $p < 0,001$; OR = 0,73, $p < 0,001$, respectivamente). Houve coincidência de casos humanos e caninos na distribuição espacial; porém, de acordo com a literatura, seria esperada maior incidência em humanos, devido à alta prevalência encontrada em cães. Portanto, novos estudos devem ser realizados para entender a dinâmica da doença no município.

Palavras-chave: fatores de risco; zoonose; leishmaniose visceral; epidemiologia.

CHIYO, Luciana. 2022. **Análisis espacial y epidemiológico de casos de Leishmaniasis Visceral Canina y Humana en Foz do Iguaçu, entre 2015 y 2020.** Asesores: VIANA, Kelvinson Fernandes (asesor). 59 h. Disertación (Maestría) - PPG-BC (Programa de Postgrado en Biociencias), UNILA (Universidad Federal de la Integración Latinoamericana), Foz do Iguaçu.

RESUMEN

El estado brasileño de Paraná era considerado libre de Leishmaniasis Visceral (LV) hasta 2012; desde entonces, se han realizado esfuerzos para identificar el vector y reservorio doméstico de esta importante zoonosis en el estado. El primer registro del flebótomo *Lutzomyia longipalpis* (vector) ocurrió en 2012, en el municipio de Foz do Iguaçu, al oeste del estado y en la frontera con Argentina y Paraguay. En 2013, se notificó el primer caso canino de la enfermedad y, en 2015, el primer caso humano. Una vez confirmada la endemia, el Centro de Control de Zoonosis (CCZ), organismo de la Secretaría Municipal de Salud, inició acciones para implementar el Programa de Vigilancia y Control de Leishmaniasis Visceral, del Ministerio de Salud. Entre 2015 y 2020, se analizaron 12.205 muestras caninas para el diagnóstico de la enfermedad. Se encontró una prevalencia del 37,94% (4.630 muestras): el año de mayor prevalencia fue el 2016, con un 46,25%, y el año de menor prevalencia, el 2020, con un 25,98%. Se evaluaron casos humanos en el mismo período y la incidencia acumulada fue de 1,39 casos/100.000 habitantes, con mayor incidencia en hombres, con edades entre 15 y 69 años, con una letalidad del 31,8%. Se analizaron los posibles factores de riesgo de los perros, y los resultados obtenidos fueron: si la solicitud del examen fue realizada por el CCZ fue un factor protector significativo, con una prevalencia menor (37,5%) que los perros de clínicas privadas (OR de 0,89, p -valor = 0,016). Los machos estaban significativamente más infectados que las hembras, con un 41,1 % y un 35,7 % de positividad, respectivamente (OR = 1,24, p < 0,0001). Los perros de compañía y los perros mestizos (SRD) se vieron significativamente menos afectados que los otros grupos evaluados (OR = 0,44, p < 0,001; OR = 0,79, p = 0,012, respectivamente). El color oscuro del pelaje de los perros fue un factor de riesgo significativo en relación con las demás categorías de color, con 41,2% de positividad (OR = 1,21, p = 0,002). Los tamaños de pelaje corto y mediano se consideraron significativamente factores de riesgo, con 41,3% y 31,3% de positividad (OR = 2,01, p < 0,001; OR = 1,39, p = 0,001, respectivamente). Los perros de pelo largo tenían solo un 22,7 % de positividad. En análisis univariados, los perros gigantes, grandes y medianos se vieron significativamente más afectados que los perros pequeños (OR = 1,50, p = 0,003; OR = 1,46, p < 0,001; OR = 1,66, p < 0,001, respectivamente). Los perros de hasta cuatro años de edad se vieron significativamente menos afectados que los de otros grupos de edad (OR = 0,30, p < 0,001; OR = 0,73, p < 0,001, respectivamente). Hubo coincidencia de casos humanos y caninos en la distribución espacial; sin embargo, de acuerdo con la literatura, se esperaría una mayor incidencia en humanos, debido a la alta prevalencia encontrada en perros. Por lo tanto, se deben realizar más estudios para comprender la dinámica de la enfermedad en el municipio.

Palabras clave: factores de riesgo; zoonosis; leishmaniasis visceral; epidemiología.

CHIYO, Luciana. 2022. **Spatial and epidemiological analysis of Canine and Human Visceral Leishmaniasis cases in Foz do Iguaçu, between 2015 and 2020**. Advisors: VIANA, Kelvinson Fernandes (advisor). 59 s. Master's thesis (Master's degree) - PPG-BC (Graduate Program in Biosciences), UNILA (Federal University of Latin American Integration), Foz do Iguaçu.

ABSTRACT

The Brazilian state of Paraná was considered free of Visceral Leishmaniasis (VL) until 2012; since then, efforts have been made to identify the vector and domestic reservoir of this important zoonosis at that state. The first record of the sand fly *Lutzomyia longipalpis* (vector) occurred in 2012, in the city of Foz do Iguaçu, west of the state and on the border with Argentina and Paraguay. In 2013, the first canine case of the disease was reported, and, in 2015, the first human case. Once the endemic was confirmed, the Center for Control of Zoonoses (CCZ), an agency of the City Health Department, started actions to implement the Visceral Leishmaniasis Surveillance and Control Program, of the Ministry of Health. Between 2015 and 2020, 12,205 dog samples were analyzed for the diagnosis of the disease. A prevalence of 37.94% (4,630 samples) was found: the year with the highest prevalence was 2016, with 46.25%, and the year with the lowest prevalence, 2020, with 25.98%. Human cases were evaluated in the same period and the cumulative incidence was 1.39 cases/100,000 inhabitants, with the highest incidence in men, aged between 15 and 69 years, with a case fatality rate of 31.8%. Possible risk factors for dogs were analyzed, and the results obtained were: whether the request for the exam was performed by the CCZ was a significant protective factor, with a lower prevalence (37.5%) than dogs from private clinics (OR of 0.89, p -value = 0.016). Males were significantly more infected than females, with 41.1% and 35.7% positivity, respectively (OR = 1.24, p < 0.0001). Companion dogs and mongrel dogs (SRD) were significantly less affected than the other groups tested (OR = 0.44, p < 0.001; OR = 0.79, p = 0.012, respectively). The dark coat color of the dogs was a significant risk factor in relation to the other color categories, with 41.2% positivity (OR = 1.21, p = 0.002). Short and medium coat sizes were significantly considered risk factors, with 41.3% and 31.3% positivity (OR = 2.01, p < 0.001; OR = 1.39, p = 0.001, respectively). Long-haired dogs had only 22.7% positivity. In univariate analyses, giant, large and medium dogs were significantly more affected than small dogs (OR = 1.50, p = 0.003; OR = 1.46, p < 0.001; OR = 1.66, p < 0.001, respectively). Dogs up to four years of age were significantly less affected than those in other age groups (OR = 0.30, p < 0.001; OR = 0.73, p < 0.001, respectively). There was a coincidence of human and canine cases in the spatial distribution; however, according to the literature, a higher incidence would be expected in humans, due to the high prevalence found in dogs. Therefore, further studies should be carried out to understand the dynamics of the disease in the municipality.

Keywords: risk factors; zoonosis; visceral leishmaniasis; epidemiology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática da distribuição dos casos de LVC em área endêmica.....	18
Figura 2. Ciclo de transmissão antroponóptica.....	19
Figura 3. Área de estudo da LVC e pontos de referência no município de Foz do Iguaçu, Paraná.....	25
Figura 4. Casos de leishmaniose visceral em cães e os clusters de casos; casos da doença em humanos e densidade de cães amostrados em Foz do Iguaçu, entre 2015 e 2020.....	31
Figura 5. Densidade de cães soropositivos eutanasiados por ano em Foz do Iguaçu, entre 2015 e 2020, em relação ao número de casos positivos representados pelo método Kernel.....	33
Figura 6. Quantidade de cães diagnosticados com LV versus proporção de animais positivos eutanasiados no município de Foz do Iguaçu, de 2015 a 2020.....	34
Figura 7. Proporção de casos positivos e negativos de LVC entre os anos de 2015 e 2020, no CCZ de Foz do Iguaçu – PR.....	36
Figura 8. Prevalência de LVC, de acordo com o mês de entrada das amostras, no Centro de Controle de Zoonoses de Foz do Iguaçu; (IC - Intervalo de confiança.....	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Clusters significativos da prevalência de LV em cães pela análise estatística de varredura espacial.....	32
Tabela 2. Número de cães testados para LV entre os anos de 2015 e 2020, com os resultados de sorologia e prevalência anual, em amostras testadas pelo CCZ de Foz do Iguaçu.....	35
Tabela 3. Resultados das análises multivariadas e univariadas dos fatores de risco.....	38
Tabela 4. Casos humanos de LV, em Foz do Iguaçu.....	39
Tabela 5. Casos humanos de LV, distribuídos por sexo e faixa etária, em Foz do Iguaçu	40

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CCZ	Centro de Controle de Zoonoses Dr. Dorival Jorge Jr. (Secretaria Municipal de Saúde do Município de Foz do Iguaçu)
ELISA	<i>Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay</i>
LACEN	Laboratório Central do Estado (Secretaria Estadual de Saúde)
LV	Leishmaniose Visceral
LVC	Leishmaniose Visceral Canina
MS	Ministério da Saúde
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Panamericana da Saúde
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> (Reação da polimerase em cadeia)
PVCLV	Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral
SESA	Secretaria Estadual de Saúde do Paraná
SINAN	Sistema Nacional de Agravos de Notificação
TRDPP [®] LVC	Teste rápido Bio-Manguinhos [®] Leishmaniose Visceral Canina (<i>Dual Path Platform</i>)
UDC	Faculdades União Dinâmica das Cataratas
UFPR	Universidade Federal do Paraná
UNILA	Universidade Federal da Integração Latino-Americana
WHO	<i>World Health Organization</i> (Organização Mundial da Saúde)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
1.1.1 As Leishmanioses.....	15
1.1.1.1 A leishmaniose visceral (LV).....	16
1.1.1.2 A leishmaniose visceral em humanos.....	17
1.1.1.3 A leishmaniose visceral canina (LVC).....	17
1.1.2 Ciclo biológico de transmissão.....	19
1.1.3 Diagnóstico da LVC.....	20
1.1.4 A LV em Foz do Iguaçu e o Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (PVCLV).....	21
1.2 JUSTIFICATIVA.....	22
2 OBJETIVOS	23
2.1 GERAL.....	23
2.2 ESPECÍFICOS.....	23
3 MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1 CENÁRIO E POPULAÇÃO DE ESTUDO.....	24
3.2 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	25
3.3 ANÁLISE ESPACIAL.....	26
3.4 ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA DOS CASOS CANINOS ENTRE OS ANOS DE 2015 E 2020 – FATOR DE RISCO OU CAUSA DA DOENÇA.....	26
4 RESULTADOS	29
4.1 RESULTADOS DA ANÁLISE ESPACIAL DOS CASOS CANINOS.....	29
4.2 RESULTADOS DA ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA E DOS FATORES DE RISCO.....	34
5 DISCUSSÃO	41
5.1 ANÁLISE ESPACIAL.....	41
5.2 ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA E FATORES DE RISCO.....	43
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	48
7 REFERÊNCIAS	49
ANEXOS	59
ANEXO A – APROVAÇÃO DA PESQUISA PELO COMITÊ DE ÉTICA.....	59

1 INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral (LV) é uma doença grave em humanos e que pode levar a óbito se não for diagnosticada e tratada adequadamente (BRASIL, 2006; PAHO, 2021). Além disso, ela é particularmente preocupante em pacientes que apresentam comorbidades, como HIV e tuberculose, onde as taxas de letalidade são maiores (RABELLO; ORSINI; DISCH, 2003; BRASIL, 2006; ARAÚJO *et al.*, 2012). Apesar de ser uma doença de notificação obrigatória ao Ministério da Saúde (MS), ela ainda é considerada uma doença negligenciada; para as doenças que se encaixam nesta classificação, faltam investimentos para a prevenção, diagnóstico e desenvolvimento de novos fármacos para seu tratamento (BARRETO *et al.*, 2011).

No caso da LV, em seu ciclo antropozoonótico em área urbana (com a participação de um animal vertebrado no ciclo de transmissão), o controle deve ter uma abordagem alicerçada em vários pilares. Um deles é a compreensão da epidemiologia dos casos caninos, com todas as variáveis envolvidas e a sua eventual relação com os casos humanos (WERNECK, 2014; VON ZUBEN; DONALÍSIO, 2016). Alguns autores defendem que, à medida que aumenta a prevalência de casos caninos, pode haver mais casos humanos (BRASIL, 2014). Ademais, na proporção em que se controla a população de cães sororreagentes por meio da eutanásia, a incidência de casos humanos também é reduzida (PALATNIK-DE-SOUSA *et al.* 2004; BERMUDI *et al.*, 2020).

Entretanto, outros estudos recentes também têm demonstrado que a eutanásia de cães positivos, se adotada isoladamente, não apresenta resultados efetivos na redução dos casos caninos e humanos em regiões endêmicas (SEVÁ *et al.*, 2016; KAZIMOTO *et al.*, 2018); isso além de ser um método questionável do ponto de vista ético (ROMERO; BOELAERT, 2010; WERNECK, 2014). A eutanásia era uma orientação do Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (PVCLV) do MS, e uma das únicas alternativas até 2016, quando o primeiro fármaco para uso veterinário foi aprovado pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA).

A LV, uma endemia outrora predominante na zona rural, especialmente na região nordeste, começou a se urbanizar e se expandir geograficamente no Brasil, nas últimas quatro décadas. Ela passou a afetar até mesmo capitais, como Belo Horizonte, Campo Grande, Teresina e Natal, causando epidemias e se estabelecendo nesses locais, além

do interior. A dispersão da LV para essas regiões ocorreu junto com a migração das famílias das zonas rurais para as cidades.

A partir de 1998, a doença ainda se espalhou para cidades do Mato Grosso do Sul e do interior de São Paulo (ROMERO; BOELAERT, 2010). Após tanto tempo, a doença continua se dispersando, o que coloca em dúvida as políticas públicas adotadas pelo MS. Isso tem levado a diversos estudos, na tentativa de sanar a lacuna de conhecimento sobre os fatores envolvidos na transmissão da LV, que são vários (ROMERO; BOELAERT, 2010).

Nesse contexto, o controle do vetor é difícil de ser implementado, pois é operacionalmente muito oneroso e foi projetado para aplicação em casas das zonas rurais, sendo de difícil aplicação no tipo de residências que existem nas cidades atualmente (MORAIS *et al.*, 2015). Outro fator que atrapalha qualquer política pública é a falta de comprometimento da população com relação à prevenção da doença em seus cães, ou seja, a falta de guarda responsável, pois a LV é uma doença prevenível e tratável (WERNECK, 2010; BELO *et al.*, 2013).

Por isso, o presente trabalho visa analisar os dados coletados ao longo dos anos de 2015 a 2020, pelo Centro de Controle de Zoonoses de Foz do Iguaçu (CCZ), durante a sua rotina de diagnóstico da doença nos cães. Assim, espera-se contribuir para as ações do município e para o fortalecimento de políticas públicas no controle da doença.

1.1 REFERENCIAL TEÓRICO

1.1.1 As Leishmanioses

As leishmanioses são doenças parasitárias provocadas por protozoários e que acometem milhões de pessoas ao redor do mundo anualmente, causando a morte de aproximadamente 50 mil pessoas neste período (WHO, 2020). Entre as diferentes formas da doença, estão a leishmaniose cutânea, ou tegumentar (LT), a leishmaniose mucocutânea e a leishmaniose visceral (LV); esta é a forma mais grave e letal da doença (WHO, 2020).

Elas são enfermidades endêmicas em 98 países, principalmente na África, Índia, América Central, América do Sul, e em alguns países da Europa (WHO, 2020). Além de serem doenças negligenciadas, são consideradas doenças subnotificadas em alguns

países, inclusive no Brasil (DANTAS-TORRES; BRANDÃO-FILHO, 2006; ROMERO; BOELAERT, 2010). Neste trabalho, será abordada a leishmaniose visceral.

1.1.1.1 A leishmaniose visceral (LV)

A LV, ou calazar, é considerada uma doença antroponozoonótica nas Américas, ou seja, é uma doença infecciosa que pode acometer animais e seres humanos. O cão (*Canis familiaris*) é o principal reservatório da doença em ambiente urbano (MORENO; ALVAR, 2002; KAZIMOTO *et al.*, 2018), servindo como a principal fonte de infecção para os vetores (QUEIROZ *et al.*, 2011).

Essa forma da doença é causada pelo protozoário *Leishmania infantum*, que é transmitido pela picada das fêmeas de insetos da família Psychodidae, subfamília Phlebotominae. Por isso, esses vetores são chamados de flebotomíneos, e popularmente conhecidos como “mosquito-palha”, “birigui” ou “tatuquira”, dependendo da região do país (BRASIL, 2006). A principal espécie identificada como vetor da LV em ambiente urbano, no Brasil, é a *Lutzomyia longipalpis* (BRASIL, 2014); porém, no Mato Grosso do Sul, a espécie que atua como vetor é a *Lutzomyia cruzi* (SANTOS *et al.*, 1998; BRASIL, 2014).

Em alguns locais de Santa Catarina, foram realizadas diversas capturas de flebotomíneos, porém, não foi encontrado o *L. longipalpis*, podendo haver alguma espécie silvestre envolvida no ciclo de transmissão, uma vez que há casos autóctones em cães da região (STEINDEL *et al.*, 2013). Outro local onde existe a transmissão para o cão sem a presença do *L. longipalpis*, é no município de Embu das Artes (SP), onde foi realizado um estudo com captura de flebotomíneos. Nele, foram identificadas 13 espécies, sendo que foi isolada a *L. infantum* a partir de uma fêmea de *Pintomyia fischeri*, um flebotomíneo nativo e que pode estar envolvido nesse ciclo local de transmissão (GALVIS-OVALLOS *et al.*; 2020).

Até a década de 80, a LV era considerada uma doença com maior prevalência em áreas rurais e periurbanas da região Nordeste do país. A partir de então, esta zoonose sofreu urbanização e expandiu a sua distribuição no Brasil (DRUMOND; COSTA, 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2016; BEZERRA *et al.*, 2018), afetando até mesmo grandes cidades e capitais (BRAZUNA, 2012; MORAIS *et al.*, 2015). Hoje, a LV se encontra distribuída em todos as unidades federativas (PASQUALI *et al.*, 2019), sendo o Rio Grande do Sul o primeiro estado do Sul do Brasil a confirmar a doença em seu território, em 2009. A

autoctonia em Foz do Iguaçu, e também no estado do Paraná, deu-se em 2012, com a identificação do vetor e do parasito em alguns cães (DIAS *et al.*, 2020).

1.1.1.2 A leishmaniose visceral em humanos

A LV é uma doença crônica, sistêmica, e que provoca, inicialmente, sinais e sintomas inespecíficos, como febre, anemia, perda de peso progressiva. À medida que vai progredindo, ela provoca aumento de tamanho do fígado e do baço, além de outras alterações hematológicas (ANVERSA *et al.*, 2018; BEZERRA *et al.*, 2018). O diagnóstico precoce e preciso é fundamental para que a doença seja corretamente diagnosticada e tratada, pois é apresentada uma taxa de letalidade em torno de 90% dos casos, se não for tratada adequadamente (BRASIL, 2011; ARAÚJO *et al.*, 2012).

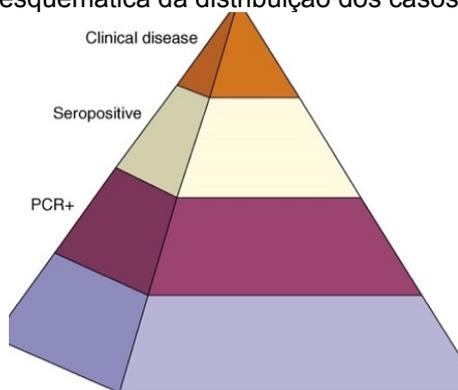
A doença está presente em 12 países das Américas, com 96% dos casos ocorrendo no Brasil, sendo notificados de 4.200 a 6.300 novos casos por ano (BEZERRA *et al.*, 2018). Um estudo que analisou os dados de casos humanos de LV de 1990 a 2016, em Belo Horizonte, mostra que a taxa de incidência aumentou 52,9% entre 2000 e 2016. Isto é explicado pelas alterações no processo de urbanização da população e de ocupação geográfica, justificando o fenômeno da expansão da doença dos estados do Nordeste para outras regiões do Sudeste e Centro-Oeste, onde encontrou condições ótimas para manter a sua endemicidade. Por sua vez, a taxa de letalidade se mantém em 8%, mesmo com os esforços envidados pelo Ministério da Saúde e pelos órgãos de assistência locais para reduzir esta taxa (WERNECK, 2016; BEZERRA *et al.*, 2018).

1.1.1.3 A leishmaniose visceral canina (LVC)

O cão doméstico é parte importante do ciclo de transmissão da LV em ambiente urbano, sendo considerado o principal reservatório do parasito para o vetor (COURAVITAL *et al.*, 2011; BRASIL, 2014). Isso ocorre, principalmente, devido à sua capacidade de infectar os flebotomíneos, estando comprovada até mesmo em animais assintomáticos, pois eles apresentam muitos parasitos disponíveis na pele. Consequentemente, esse é um dos principais fatores que dificultam o controle da LV, pois o cão é um animal muito presente nas residências; estando infectado e sem proteção, ele mantém a cadeia de transmissão do parasito (MADEIRA *et al.*, 2009; QUEIROZ *et al.*, 2011; LAURENTI *et al.*, 2013; BORJA *et al.*, 2016; CARVALHO Jr. *et al.*, 2017).

Outro fato que torna o cão um importante fator de manutenção da doença nas cidades é que, muitas vezes, ele está infectado, mas não manifesta sinais clínicos (ficando assintomático); ou pode se apresentar oligossintomático (com poucos sinais clínicos) ou com sinais inespecíficos. Apenas uma pequena porcentagem de cães em uma população torna-se sintomática (Figura 1). Deste modo, tem-se a possibilidade que uma grande porcentagem de animais positivos – e até sorologicamente negativos, porém infectados – permaneçam no ambiente, servindo como fonte de infecção para os vetores.

Figura 1. Representação esquemática da distribuição dos casos de LVC em área endêmica



Nota explicativa: Feito de acordo com um estudo transversal, mostrando a baixa proporção entre animais clinicamente positivos (topo da pirâmide), com os soropositivos em menor proporção, e com aqueles que somente podem ser diagnosticados utilizando técnicas moleculares, como o PCR, formando a segunda maior parte da pirâmide.

Fonte: BANETH *et al.*, 2008.

Nesse contexto, diferentes estudos mostram que diversas espécies de animais silvestres podem servir como reservatório de LV; porém, nenhuma apresenta importância epidemiológica comprovada até o momento (BRASIL, 2014). Essas espécies de animais silvestres que são naturalmente parasitadas pela *Leishmania infantum* são: gambás (TRAVI *et al.*, 2002; LAINSON; RANGEL, 2005); algumas espécies de roedores silvestres, bem como o cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) (LAINSON *et al.*, 1987a) e morcegos (FIGUEIREDO *et al.*, 2015).

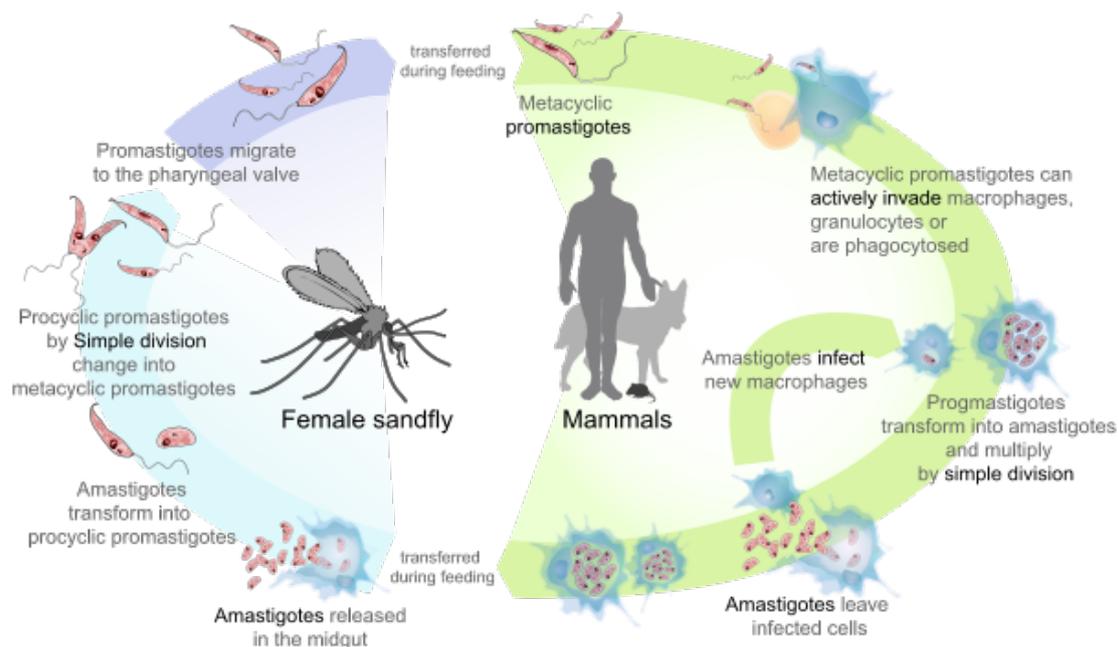
Dezenas de espécies de animais silvestres de várias ordens já foram diagnosticadas com a infecção natural por diferentes espécies de *Leishmania*, o que indica a necessidade de mais estudos. Afinal, o controle de reservatório da doença em ambiente urbano é focado no cão; talvez, em regiões próximas a áreas silvestres, possa haver algum outro reservatório de relevância, e que estaria sendo negligenciado (ROQUE; JANSEN, 2014).

A LV tem tratamento e controle em cães; porém, vários autores já demonstraram que esses animais não apresentam cura parasitológica. Sendo assim, o animal pode se tornar clinicamente saudável, mas pode continuar sendo fonte de infecção para os flebotomíneos que, ao se alimentarem nele, continuam o ciclo de transmissão. Contudo, a transmissão da doença na população canina pode ser evitada se forem adotados métodos repelentes químicos para os flebotomíneos (DANTAS-TORRES *et al.*, 2020), ou outros métodos que reduzam este contato vetor-reservatório.

1.1.2 Ciclo biológico de transmissão

O ciclo antrozoótico (Figura 2), descrito para as Américas e presente na área urbana, consiste nas fêmeas hematófagas de flebotomíneos que, ao se alimentarem em um cão infectado, ingerem as formas amastigotas (não flageladas) da *Leishmania infantum*. Após alguns dias, a fêmea de flebotomíneo infectada, ao realizar o repasto sanguíneo em cães ou em seres humanos, pode lhes transmitir os parasitos por meio da regurgitação de formas promastigotas, ou seja, o protozoário na forma flagelada (NASCIMENTO *et al.*, 2013; SILVA, 2016).

Figura 2. Ciclo de transmissão antrozoótica



Nota explicativa: Esquema apresentando as formas em que o protozoário se encontra em cada elo do ciclo, nas suas formas amastigota e promastigota (flagelada).

Fonte: Wikimedia Commons.

1.1.3 Diagnóstico da LVC

Um diagnóstico rápido, barato e efetivo é importante para o controle da LV e da LVC (ALVES; BEVILACQUA, 2004). No entanto, o diagnóstico da LVC pode ser complexo e desafiador em alguns casos, pois parte dos animais infectados pode viver muitos meses sem manifestar sinais clínicos (MAIA; CAMPINO, 2008). Ainda, uma parcela pode se mostrar oligossintomática, provocando atraso ou confusão no diagnóstico, e retardando o tratamento e a recuperação do animal doente (ALVES; BEVILACQUA, 2004). Logo, esse é um dos maiores problemas apontados de falha no controle da doença, pois animais positivos ou falso-negativos em testes sorológicos podem permanecer no ambiente, o que interfere no Programa de Controle da Doença (COURA-VITAL *et al.*, 2011).

Nesse sentido, ao longo dos anos, diferentes protocolos de diagnóstico sorológico foram adotados pelo Ministério da Saúde, baseados na epidemiologia da doença. Todavia, alguns pesquisadores questionam a eficácia dos exames sorológicos como único método diagnóstico, principalmente com relação à especificidade (ALVES; BEVILACQUA, 2004; REIS *et al.*, 2013). Esses questionamentos surgem, em parte, porque a política do MS recomenda a eutanásia dos animais positivos como forma de controle da doença. Mesmo assim, desde a regulamentação do PVCLV na década de 50, e com esta medida sendo adotada, os casos da doença em humanos não reduziram.

Na verdade, a doença acabou ampliando sua distribuição para os ambientes urbanos. Atualmente, para diagnóstico da doença em cães, o Teste Rápido (TR DPP® LVC – Bio Manguinhos) foi instituído como método de triagem a partir de 2012; enquanto isso, o ELISA, que até então era o método de triagem, foi escolhido para ser o teste de confirmação ou exclusão da doença nos laboratórios oficiais do serviço público (BRASIL, 2011).

O TR DPP® LVC é um teste desenvolvido para uso em campo, de modo prático e rápido, podendo ser realizado com uma gota de sangue periférica, ou a partir de uma coleta mais robusta. Nesta, se processa a amostra para realizar o teste com o soro sanguíneo ou, então, com o plasma, o que demonstra bastante versatilidade. Em um estudo de validação do teste, foram encontrados 89% de sensibilidade e 70% de especificidade (FIGUEIREDO *et al.*, 2018). Nesse mesmo estudo, os resultados mostraram que tanto a sensibilidade quanto a especificidade sofrem decréscimo à medida

que os sinais clínicos dos cães são reduzidos; logo, os resultados devem ser analisados com cautela quando se trata de animais assintomáticos.

Enquanto alguns autores afirmam que o ELISA, utilizado como confirmatório, aumentaria a sensibilidade do protocolo, outros comprovaram que o TR DPP® é um excelente teste, com alta sensibilidade para animais sintomáticos (ROMERO; BOELAERT, 2014). Um outro estudo, realizado em 426 cães em Gurupi (TO), testou o TR DPP® LVC como triagem e o ELISA como confirmatório, de acordo com o protocolo oficial. Em seguida, testou os mesmos animais utilizando o ELISA como triagem e o TR DPP® LVC como teste confirmatório. Como resultado, encontraram o mesmo resultado nos dois protocolos, confirmando que ambos possuem boa sensibilidade (ALMEIDA *et al.* 2017).

1.1.4 A LV em Foz do Iguaçu e o Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (PVCLV)

O primeiro registro do vetor da LV no Paraná foi feito em 2012, como resultado de uma pesquisa realizada pelos Núcleos de Entomologia da Secretaria Estadual da Saúde do Paraná - SESA (SANTOS; FERREIRA; BISELTO JUNIOR, 2012). Até então, Foz do Iguaçu, como todos os outros municípios do estado, era considerado indene para a doença (THOMAZ-SOCCOL *et al.*, 2009). Nos anos de 2012 e 2013, em um esforço conjunto entre várias instituições de pesquisa e de serviço de saúde (UFPR, SESA, UDC e Prefeitura do Município de Foz do Iguaçu), foram realizados exames sorológicos de quase 400 cães.

Posteriormente, foram realizados o isolamento e o sequenciamento genético, confirmando a espécie do protozoário como *Leishmania infantum*, e possibilitando classificar a autoctonia da doença pela primeira vez no estado do Paraná (DIAS *et al.*, 2020). A notificação do primeiro caso canino no SINAN Net (Sistema de Notificação de Agravos em Saúde do Ministério da Saúde) se deu oficialmente em 2013 (SINAN NET, 2013).

O PVCLV é um programa estabelecido pelo Ministério da Saúde e estabelece as medidas a serem adotadas com relação à prevenção e ao controle da doença. Basicamente, o programa se baseia nos seguintes pilares: diagnóstico e tratamento dos casos humanos; controle vetorial; diagnóstico e controle da doença em cães, por meio da eutanásia dos animais positivos; e educação em saúde (BRASIL, 2014).

Em nível municipal, o órgão responsável pelo controle vetorial e pelo controle da enfermidade nos cães é o Centro de Controle de Zoonoses (CCZ), um órgão da Secretaria Municipal da Saúde (BRASIL, 2014). Além da vigilância e controle de outras enfermidades, tais como raiva, esporotricose e febre amarela, o CCZ realiza rotineiramente a coleta de sangue dos cães domiciliados e o diagnóstico sorológico para a doença desde que a LV passou a ser considerada endêmica.

Eventualmente, animais encontrados doentes em vias públicas, com sinais sugestivos da doença, também podem ter o sangue coletado para teste. Além disso, os médicos veterinários da rede particular também podem enviar amostras de sangue de seus pacientes para exames, bem como podem encaminhar animais positivos para a realização da eutanásia pelo órgão público, desde que haja comprovação da doença e de que o animal não responda positivamente ao tratamento.

A principal medida adotada pelo CCZ ao longo dos anos foi com relação a vigilância passiva do reservatório, bem como seu controle, com eutanásia dos cães positivos. Educação em Saúde também é realizada diariamente pelos Agentes de Controle de Endemias que visitam as residências, na vistoria ambiental de rotina. Ademais, outras ações educativas mais específicas também são realizadas em escolas e outras instituições, por uma equipe específica de Educação em Saúde, além de veiculações esporádicas na mídia.

1.2 JUSTIFICATIVA

O PVCLV, do Ministério da Saúde, é executado nos municípios pelos Centros de Controle de Zoonoses (CCZs), quando presentes na estrutura das Secretarias Municipais de Saúde. Foz do Iguaçu, sendo o primeiro município do Estado do Paraná considerado endêmico para essa zoonose, apresenta-se como um modelo para que outros municípios possam se estruturar no enfrentamento da doença, caso ela continue a se dispersar, atingindo outros municípios.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

- realizar um estudo espacial e epidemiológico sobre os casos caninos e humanos de leishmaniose visceral no período entre 2015 e 2020, em Foz do Iguaçu, bem como possíveis fatores de risco para a doença em cães.

2.2 ESPECÍFICOS

- analisar as áreas de concentração de casos caninos; e
- analisar algumas características dos cães para saber se representam fatores de risco para a doença, tais como: cor e tamanho do pelo, porte do animal, idade, sexo, raça, e se a prevalência entre amostras procedentes da demanda espontânea do CCZ é maior que a das clínicas veterinárias.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 CENÁRIO E POPULAÇÃO DE ESTUDO

Foz do Iguaçu é um município localizado no extremo oeste do estado do Paraná (Figura 3), e possui população estimada em 257.971 habitantes (IBGE, 2021). Circundado por dois importantes rios (Paraná e Iguaçu), está localizado em área de tríplice fronteira, tendo como vizinhos o Paraguai e a Argentina.

Em relação à população de cães na cidade, o CCZ do município realizou a última campanha de vacinação antirrábica no método casa a casa, em 2014, tendo vacinado 47.304 cães e 7.676 gatos. Assim, este é o número mais próximo que se conhece da estimativa de animais domiciliados, desconsiderando-se aqueles que eram vacinados em clínicas particulares; as casas fechadas; e as recusas em vacinar o animal com uma vacina oferecida pelo serviço público (Fonte: CCZ).

Após esta data, não foram realizadas novas campanhas de vacinação neste modelo, tampouco se realizou censo animal; porém, de acordo com alguns trabalhos, este número está proporcional à razão de um cão domiciliado para cada 5,14 pessoas (SANTOS *et al.*, 2004). Contudo, o número de animais errantes no município é desconhecido.

Portanto, os dados utilizados neste estudo são de cães domiciliados, ou seja, que possuem um responsável e um endereço. Estes animais são levados ao CCZ para a coleta de sangue e exame de LV, ou, em menor proporção, a amostra de sangue é enviada ao CCZ pelos profissionais do serviço veterinário privado. Ao fazer a coleta de sangue, são coletados dados do proprietário, como endereço, e dados do animal (idade, raça, sexo, peso, sinais clínicos, cor e comprimento do pelo). Cada amostra de sangue é centrifugada e o soro obtido é testado com o TR DPP® no CCZ.

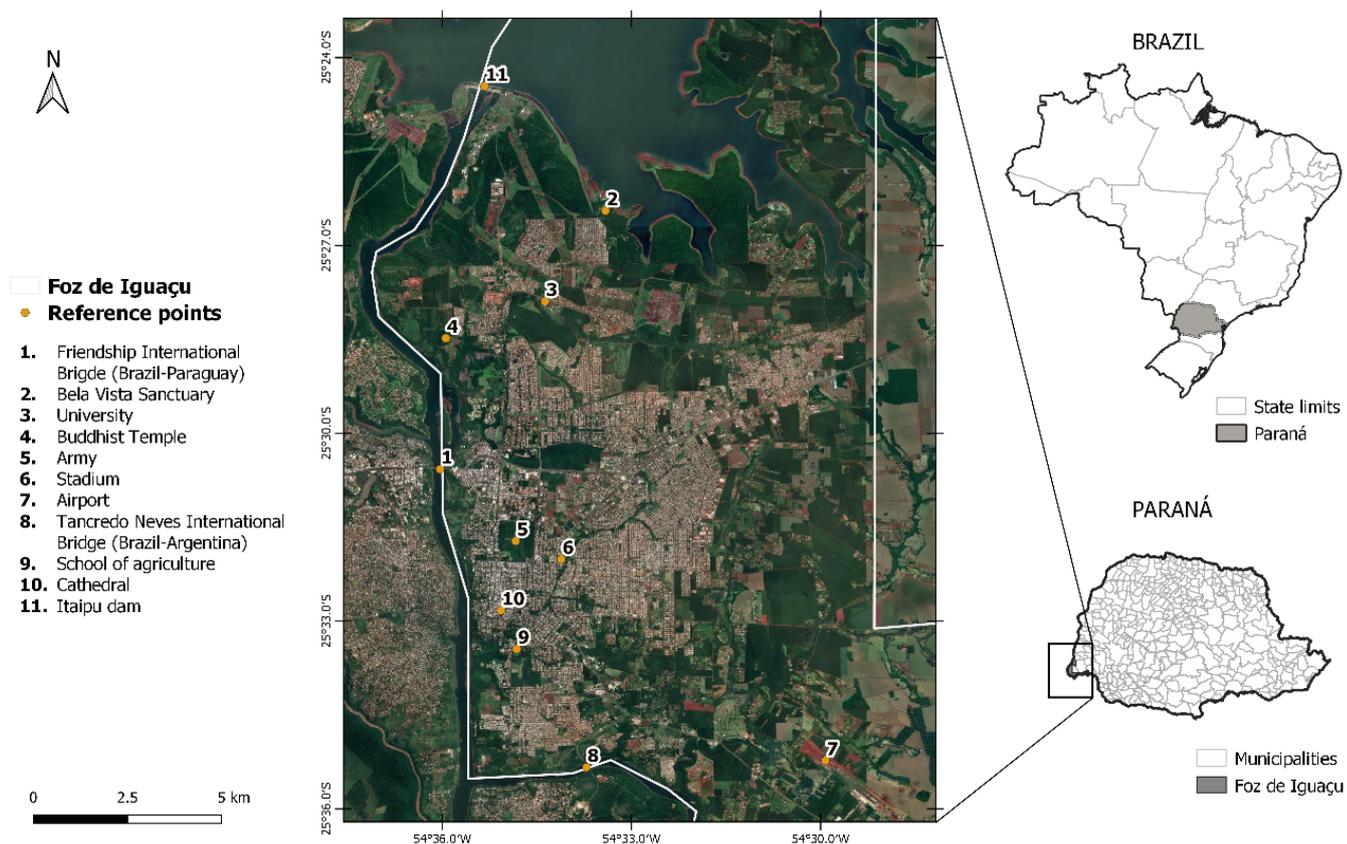
Para as amostras com resultado reagente, uma alíquota da mesma amostra de soro sanguíneo é encaminhada para o Laboratório Central do Estado (LACEN), em Curitiba, que é o laboratório de referência para alguns exames da rede pública; lá, as amostras são testadas com o ELISA padronizado pelo MS. Seguindo o protocolo federal, os animais que têm os dois resultados “reagente” são considerados positivos. Em seguida, os proprietários são comunicados dos resultados em todos os casos, sejam positivos ou negativos.

Na situação de positivo, uma parte dos responsáveis sequer inicia o tratamento do animal e já deseja autorizar a eutanásia. Até o ano de 2016, o tratamento dos animais não

era possível, porque não havia nenhuma droga de uso específico, e o MS recomendava que todos os cães positivos fossem eutanasiados. Ademais, o MS proibia o uso de medicamentos de uso humano no tratamento dos cães, a fim de evitar resistência do protozoário.

Todavia, em 2016, uma portaria conjunta do MS e do Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), autorizou o uso de um fármaco específico para tratamento do cão (miltefosina). Assim, parte dos tutores de animais positivos passou a ter a opção de tratar esses cães, podendo evitar a eutanásia, ao menos em um primeiro momento. Até então, este é o único medicamento disponível para tratamento específico da LVC.

Figura 3. Área de estudo e pontos de referência no município de Foz do Iguaçu, Paraná



3.2 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Este é um estudo epidemiológico observacional transversal. Para as análises espaciais e de fator de risco, foram considerados positivos os animais reagentes nos dois testes: o TR DPP® e o ELISA.

3.3 ANÁLISE ESPACIAL

Os endereços de residência dos cães foram obtidos e georreferenciados pelo aplicativo Geocode, do Google Sheet[®], e plotados no Software QGIS[®] 3.10 para a confecção de mapas e realização de análises.

O método de estimação de densidade Kernel foi utilizado para visualizar a distribuição e a densidade de amostras de cães soropositivos (considerando TR DPP[®] e ELISA) no mapa (PFEIFFER *et al.*, 2008). Em seguida, o resultado de todos os animais amostrados foi separado por ano. A função quártica de Kernel foi usada para criar uma superfície suavizada (CÂMARA; CARVALHO, 2004) no Software QGIS[®] 3.10. Ademais, os casos humanos também estão demonstrados em cada ano.

O método para a estimativa de cluster local aplicado foi a varredura espacial, desenvolvida por Kulldorff e Nagarwalla (1995). Para tal, foi usado o modelo estatístico com distribuição de *Bernoulli*, considerando os casos positivos e os casos controles (negativos). Esse método calcula taxas de prevalência locais dentro de círculos de varreduras de vários tamanhos, e compara com a prevalência fora do círculo, além de fornecer o valor de p correspondente à esta análise.

Para cada cluster em potencial, calcula-se o teste da razão de verossimilhança, comparando a hipótese de que o risco da doença seja maior no interior do círculo contra a hipótese de que o risco é igual para as áreas dentro e fora do círculo (KULLDORFF, 1995; WHELLER, 2007; PFEIFFER *et al.*, 2008). O programa computacional utilizado nesse estudo para esta análise foi o SaTScan[®] (KULLDORFF, 1995), versão 9.4.2, com um nível de significância de 5%.

3.4 ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA DOS CASOS CANINOS ENTRE OS ANOS DE 2015 E 2020 – FATOR DE RISCO OU CAUSA DA DOENÇA

Este é um estudo ecológico e quantitativo, a partir da análise realizada com o banco de dados do CCZ. Analisou-se as informações coletadas entre 2015 e 2020 de todos os cães testados dentro do protocolo oficial da rede pública.

As associações entre o resultado do diagnóstico positivo de LV e as características dos cães foram estimadas, tentando identificar potenciais fatores de risco ou causa da doença (sexo, faixa etária, grupo de raça, categoria de cor, porte, tipo de pelagem,

conhecimento da procedência) e da procedência da amostra, se o exame foi solicitado pelo CCZ ou por um médico veterinário da rede particular.

Estas associações foram testadas pelo Teste Qui-quadrado ou exato de Fisher. Variáveis com nível de significância de valor $p < 0,20$ foram consideradas candidatas a se adequarem ao modelo multivariável, incluindo todas as interações biologicamente plausíveis de duas vias.

Em seguida, utilizou-se uma abordagem retrocedente, e o melhor modelo foi definido como aquele que incluía variáveis significativamente associadas (valor de $p < 0,05$) e minimizava o valor do Critério de Informação da Akaike (AIC). Também foram realizadas análises univariadas para as variáveis que não entraram na análise multivariada; e um modelo único foi aplicado para os animais de todos os anos avaliados (2015 - 2020). Variáveis com menos de 75% da taxa de resposta, bem como indivíduos com resultado inconclusivo no teste, foram excluídos da análise.

Para variáveis de prevalência ou incidência, conforme locais de origem, além de ano e mês de atendimento, foram calculados para o intervalo de confiança de 95%. Todas as análises estatísticas mencionadas anteriormente foram realizadas no Programa Computacional R (versão 3.6.1).

Para a análise de fator de risco de acordo com as variáveis, os animais foram categorizados através de um padrão definido conforme os dados constantes na planilha. Como este estudo se baseia em uma análise de banco de dados secundário (do Serviço Público Oficial), muitas informações não foram coletadas ou digitadas na planilha; apesar de oficial, ela é de uso apenas em nível local, tendo sido criada quando o PVCLV foi estabelecido no município.

Para a variável sexo, há informações sobre machos e fêmeas; as amostras em que não constam essa informação foram excluídas das análises. Para a variável “raça”, os animais foram separados em “grupos de raça”: guarda de pelo curto (Boxer, Doberman, Rottweiler, Dálmata), animais de companhia (raças pequenas como: Lhasa Apso, Shiz Tzu, Spitz Alemão, Pinscher, Pug, Poodle, Daschund), gigantes (São Bernardo, Dogue de Bordeaux, Cane Corso, Dogue Alemão), pastores (Pastor Alemão, Border Collie, Collie, Pastor de Mallinois, Pastor Capa Preta), Pit Bull (Pit Bull, American Staffordshire Terrier, Bull Terrier) e os SRDs (sem raça definida). Novamente, os animais sem essa informação digitada foram excluídos das análises.

Para a cor do pelo, também foram separadas categorias: clara (cores relatadas: creme, areia, bege, marrom claro, dourado claro, cinza claro), bicolor ou tricolor (em todas

as suas variantes); escura (preto, chocolate, cinza escuro, padrão “preto e tan”); e média (todos os tons relatados de amarelo, marrom, dourado, caramelo, vermelho). A variável “pelagem” se refere ao comprimento do pelo descrito na planilha: curta, média ou longa.

Por sua vez, a categoria “Porte” ficou dividida em Pequeno (até 10 Kg), Médio (10 a 25 Kg), Grande (25 a 35 Kg) e Gigante (maiores que 36Kg). Enquanto isso, a faixa etária foi dividida em quatro grupos: até um ano de idade, de um a quatro anos, de cinco a oito anos e maiores de nove anos. Já a variável “recolhido na rua” entrou apenas na análise univariada, por conter muitos campos sem informação. Finalmente, para todas as variáveis, foram excluídos os animais que não tinham essa informação digitada.

4 RESULTADOS

4.1 RESULTADOS DA ANÁLISE ESPACIAL DOS CASOS CANINOS

Clusters de prevalência espacial canina foram identificadas, com significância estatística, em todos os anos analisados (Tabela 1). Nos anos de 2015, 2016 e 2019 (Figura 4), apareceu uma área relativamente comum, envolvendo a região centro-oeste do município e englobando as áreas do Batalhão do Exército, do Estádio de Futebol e da Catedral.

Em 2015 e 2016, os clusters foram um pouco maiores (Figura 4), chegando a englobar o Colégio Agrícola, que fica localizado na zona sul do município, e a região da Ponte Internacional da Amizade (limite com o Paraguai). O cluster de 2015 foi um pouco maior que o de 2016, e chegou próximo ao Templo Budista e aos bairros próximos da Universidade, na zona norte. Além disso, em 2016, além do cluster maior já descrito, houve um menor, englobando um bairro próximo onde ocorreu um caso humano.

No ano de 2017, o cluster englobou mais a região leste e norte (Figura 4), chegando à região nordeste do município. No ano de 2018 (Figura 4), por sua vez, aparecem dois clusters: um parecido com o de 2017, que engloba parte da região norte, mas já englobando as regiões próximas ao Templo Budista, o Refúgio Ecológico de Itaipu, e também o local de ocorrência de um dos casos humanos daquela região. Já outro cluster é um pouco menor e engloba parte da região norte e parte da região leste, onde ocorreram dois casos humanos.

Em 2019 (Figura 4), o cluster engloba as regiões centrais, norte e leste, e contém o Batalhão do Exército, a Catedral, o Estádio de futebol e um caso humano ocorrido na região leste. Em seguida, para o ano de 2020, também houve dois clusters: um menor, quase do mesmo diâmetro do cluster de 2018; porém, um pouco mais ao norte daquele e em uma região que compreende os bairros entre o Refúgio Ecológico de Itaipu e o Templo Budista (zona norte). Enquanto isso, o segundo cluster de 2020, foi bem abrangente, englobando áreas da região norte, centro-oeste, leste e sul, incluindo até a área do Aeroporto e chegando bem próximo a um bairro da região nordeste, ficando limítrofe a uma área onde houve grande concentração de casos caninos.

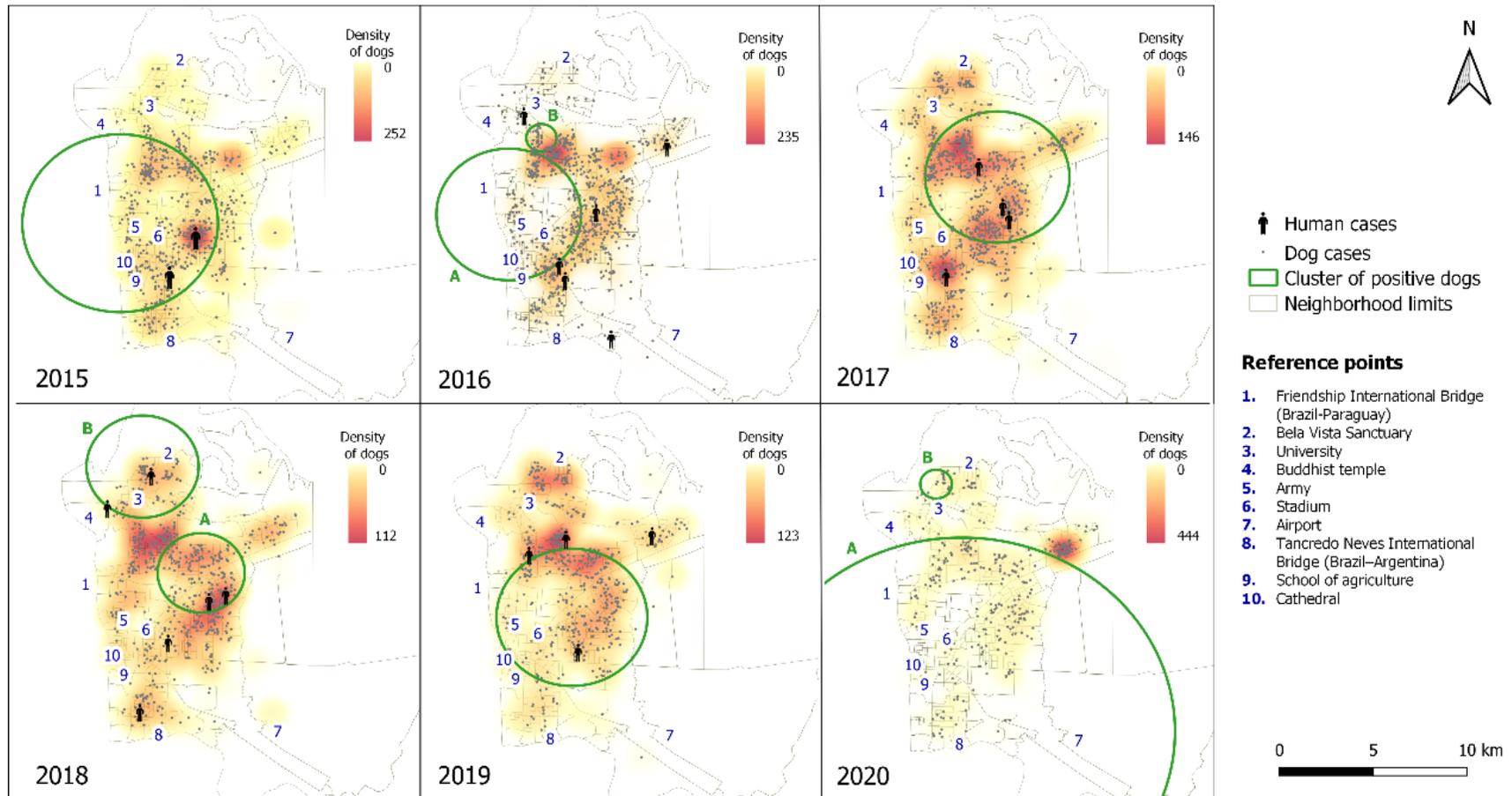
Em relação a todos os anos analisados, em 2015 registrou-se o cluster mais evidente (Figura 4), pois mostra que o risco de se infectar foi de 17,14 vezes maior dentro do cluster do que fora do círculo (Risco Relativo = 17,4), e a prevalência dentro do círculo

foi maior do que 50% ($p = 53,6\%$). Em contrapartida, a menor prevalência dentro de um cluster nos anos analisados foi na zona norte, em 2020, atingindo 35,2%.

Considerando os anos em que houve casos humanos, alguns ou todos tinham suas residências dentro dos clusters encontrados, com exceção do ano de 2016.

O mapa a seguir (Figura 5) mostra que a distribuição da quantidade de eutanásias realizadas em animais positivos, em cada ano, parece ter um padrão constante no tempo. Isso em relação à distribuição dos casos, e se sobrepõe às áreas de concentração de casos observados através do método Kernel.

Figura 4. Casos de leishmaniose visceral em cães e os clusters de casos; casos da doença em humanos e densidade de cães amostrados em Foz do Iguaçu, entre 2015 e 2020.



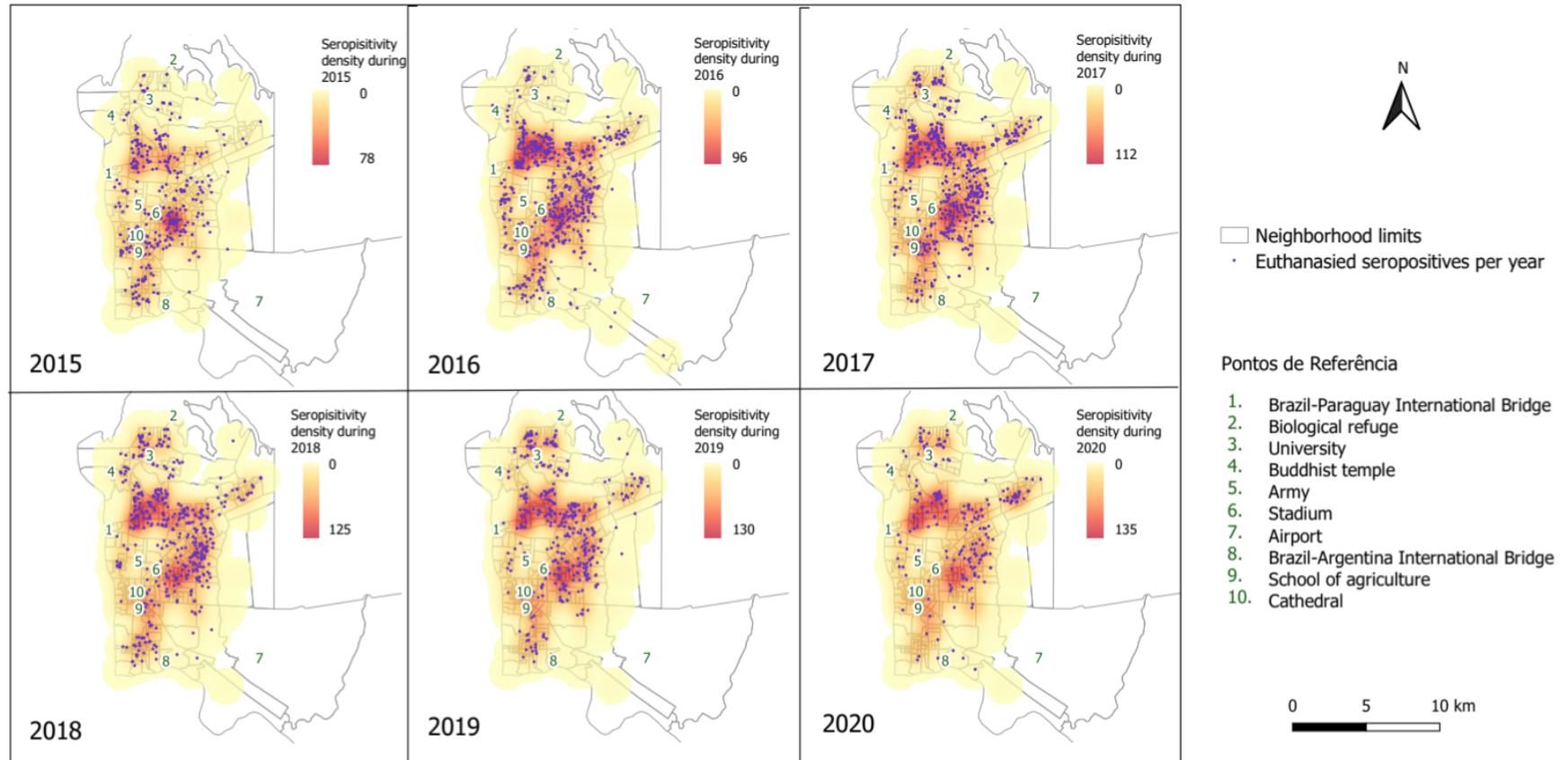
Fonte: A autora.

Tabela 1. Clusters significativos da prevalência de LV em cães pela análise estatística de varredura espacial

	2015	2016		2017	2018		2019	2020	
		A	B		A	B		A	B
Prevalência dentro do cluster	53.6% (15/28)	60.6% (263/434)	77% (55/77)	44.2% (578/1309)	50.0% (216/432)	56.2% (99/176)	41.9% (348/830)	35.2% (269/765)	65.5% (19/29)
Casos esperados	7.47	200.51	35.57	508.73	166.96	68.02	297.77	198.35	7.52
Risco relativo	17.14	1.41	1.58	1.31	1.42	1.53	1.40	2.10	2.60
Razão de propriedade log	11.008	22.335	10.384	15.228	14.911	12.296	13.112	34.420	10.196
P-valor	0.0029	0.00000099	0.040	0.00064	0.00045	0.0050	0.0027	0.000000000020	0.028

Fonte: A autora.

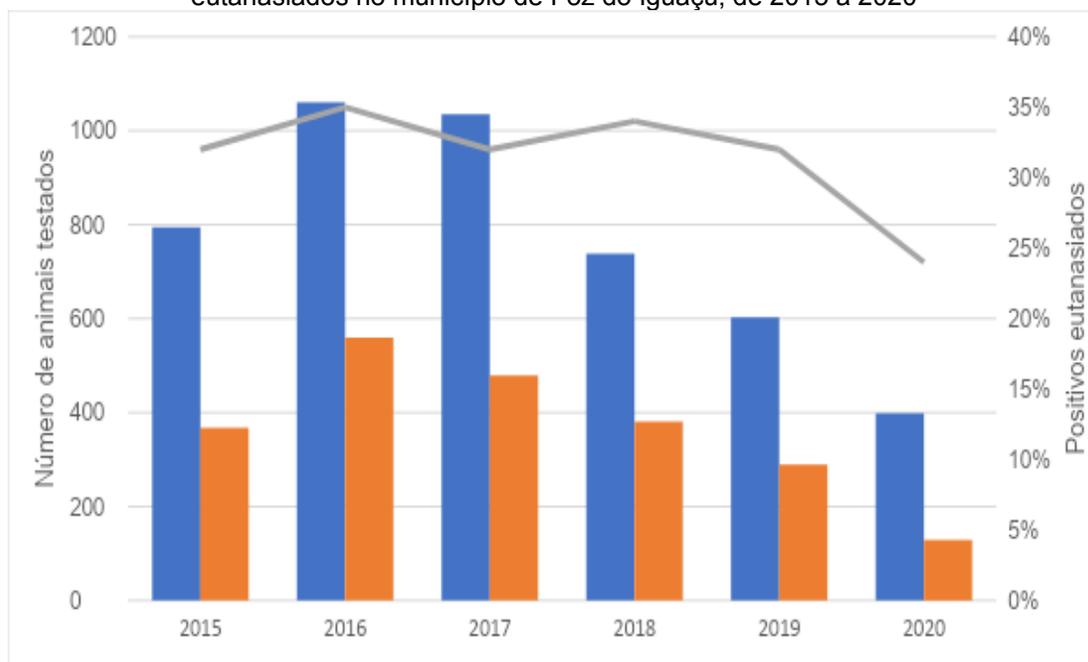
Figura 5. Densidade de cães soropositivos eutanasiados por ano em Foz do Iguaçu, entre 2015 e 2020, em relação ao número de casos positivos representados pelo método Kernel



Fonte: A autora.

Também é possível observar no gráfico abaixo (Figura 6), que a proporção média de animais eutanasiados fica em torno de 32% em relação aos animais positivos nos anos analisados. A menor proporção foi registrada no ano de 2020.

Figura 6. Quantidade de cães diagnosticados com LV versus proporção de animais positivos eutanasiados no município de Foz do Iguaçu, de 2015 a 2020



Fonte: A autora.

4.2 RESULTADOS DA ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA E DOS FATORES DE RISCO

Os exames de LVC começaram a ser realizados de forma rotineira a partir de 2014. No entanto, como as informações não eram completas, utilizamos os dados a partir de 2015, pois estes estavam mais completos e organizados. O total de exames analisados no período de 2015 a 2020 foi de 12.205 amostras, divididas conforme mostrado na tabela abaixo (Tabela 2).

Tabela 2. Número de cães testados para LV entre os anos de 2015 e 2020, com os resultados de sorologia e prevalência anual, em amostras testadas pelo CCZ de Foz do Iguaçu

ANO	NEGATIVOS	POSITIVOS	PREVALÊNCIA
2015	1329	795	37,43%
2016	1232	1060	46,25%
2017	1629	1035	38,85%
2018	1170	738	38,68%
2019	1078	603	35,87%
2020	1137	399	25,98%
Total Geral	7575	4630	37,94%

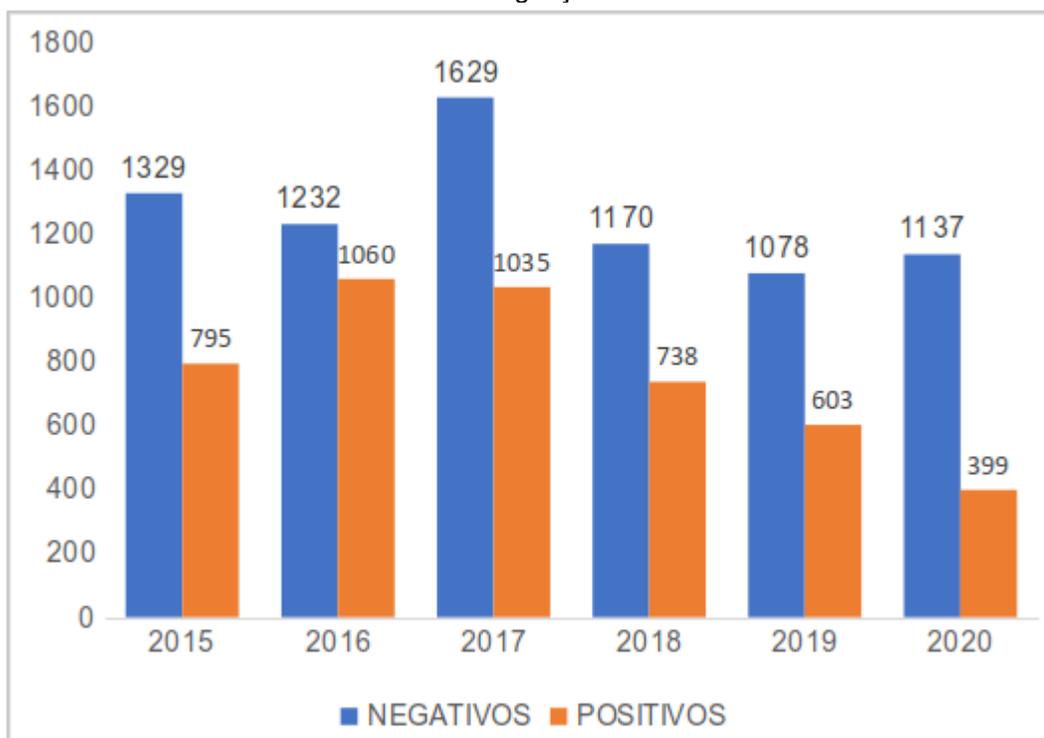
Fonte: CCZ.

Dentre esses anos, 2015 foi marcado por uma coleta realizada em função de um estudo envolvendo instituições de pesquisa e o serviço de Vigilância Epidemiológica e Ambiental (UFPR, SESA, Prefeitura do Município de Foz do Iguaçu, UDC e UEM). Para esta pesquisa, a cidade foi dividida em quadrantes, dos quais foram escolhidos, aleatoriamente, 123 pontos de monitoramento. Nestes locais, foram instaladas armadilhas para captura de flebotomíneos.

Concomitantemente a essa captura, foram realizadas coletas de sangue de cães nos mesmos 123 pontos e no entorno, totalizando 1129 amostras (THOMAZ-SOCCOL *et al.*, 2017). A prevalência de animais soropositivos nessa amostragem ficou em 23,8%, mas quando foi reunida com as amostras da rotina (demanda espontânea da população e das clínicas veterinárias), a prevalência subiu para 37,43% (Figura 7).

Considerando todo período analisado, o ano que teve mais amostras foi 2017 (n = 2.664), e o ano com menos foi o de 2020 (n = 1.536). Essa queda nos registros do último ano analisado se deu graças à interrupção temporária de coletas após a declaração da pandemia de covid-19. Posteriormente, as pessoas acabaram procurando menos o serviço do CCZ devido às restrições de mobilidade que perduraram por todo o ano.

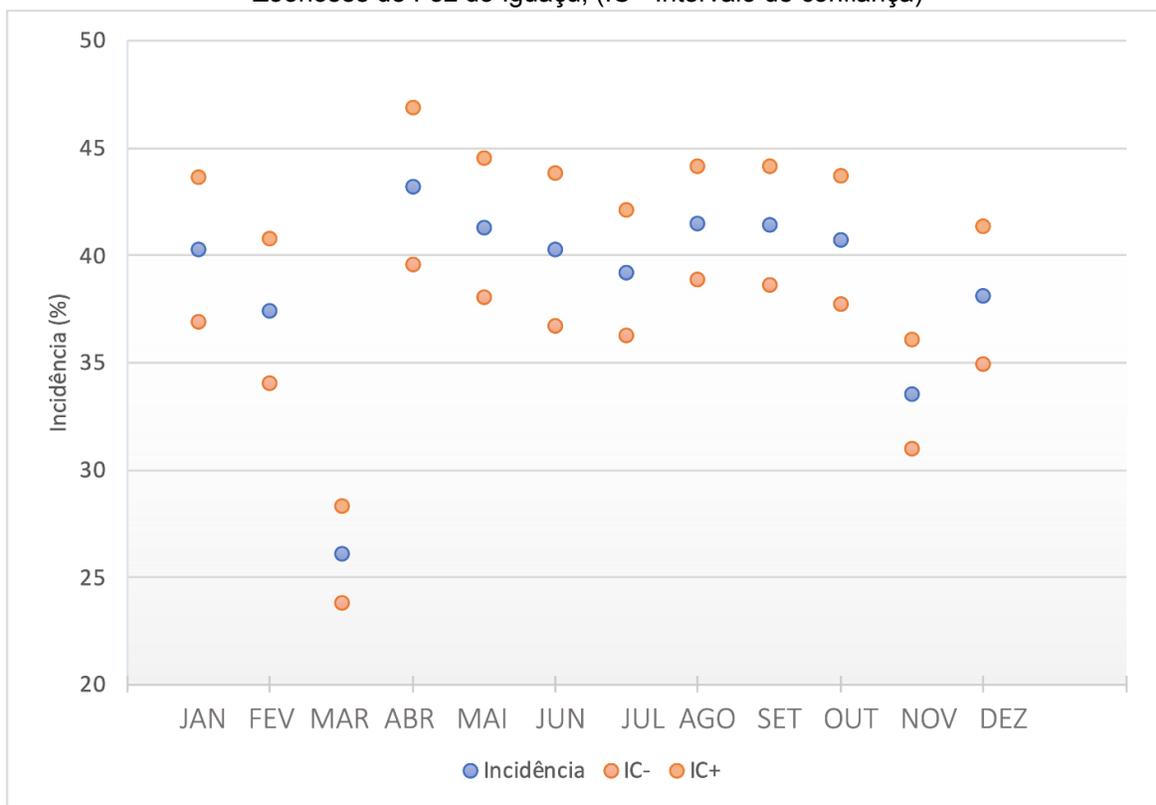
Figura 7. Proporção de casos positivos e negativos de LVC entre os anos de 2015 e 2020, no CCZ de Foz do Iguaçu - PR



Fonte: A autora.

A prevalência média para os anos analisados foi de 37,9% (4.630/12.205; IC 95% 37,1 – 38,8), mas o ano com maior prevalência, 2016, teve 46,25% de cães analisados sororreagentes. Já o ano com a menor prevalência foi o de 2020, com 25,98%. De modo geral, o mês de março significativamente teve a menor prevalência de positivos (26,08%, IC 95%: 35,94% - 41,23%) em relação aos outros meses do ano, como se observa no gráfico abaixo (Figura 8).

Figura 8. Prevalência de LVC, de acordo com o mês de entrada das amostras, no Centro de Controle de Zoonoses de Foz do Iguaçu; (IC - Intervalo de confiança)



Fonte: A autora.

Com relação aos fatores associados, as variáveis “se foi recolhido na rua”, porte e faixa etária não foram incluídas na análise multivariada (Tabela 3) devido ao alto número de cães que não tinham essas informações registradas (10.147 – 83,1%; 3.302 – 27,0%; 2.462 – 20,1%, respectivamente).

As outras variáveis escolhidas, e que foram adequadas para entrar no modelo multivariado, foram: se a requisição do exame teve procedência no CCZ ou de clínicas particulares – isso significa que a procedência do CCZ, na verdade, é quando o proprietário do animal toma a iniciativa de levá-lo diretamente ao órgão público para realizar o exame, sem antes passar por um médico veterinário particular –; o sexo mais acometido; o grupo de raça; a cor do pelo; e a pelagem, que é uma informação com relação ao comprimento do pelo.

Tabela 3. Resultados das análises multivariadas e univariadas dos fatores de risco

Variáveis	Categorias	Frequências				Total	Análise multivariada				Análise univariada			
		Positivo		Negativo			OddsRatio	CI -	CI +	P- valor	OddsRatio	CI -	CI +	P- valor
		N	%	N	%									
Requisição	Particular	1272	39,1	1981	60,9	3253	Referência							
	CCZ	3358	37,5	5594	62,5	8952	0,89	0,81	0,98	0,016				
	Fêmea	2528	35,7	4562	64,3	7090	Ref							
Sexo	Macho	2079	41,1	2976	58,9	5055	1,24	1,14	1,34	0,000				
	Sem Info					60	Excluídos da análise							
Grupo de raça	Guarda Pelo Curto	274	49,4	281	50,6	555	Ref							
	Companhia	656	25,5	1914	74,5	2570	0,44	0,36	0,54	0,000				
	Gigantes	41	53,9	35	46,1	76	1,27	0,75	2,13	0,374				
	Pastores	206	37,5	344	62,5	550	0,85	0,65	1,11	0,237				
	Pit Bull	347	52,0	320	48,0	667	1,18	0,93	1,51	0,173				
	SRD	2842	40,0	4256	60,0	7098	0,79	0,65	0,95	0,012				
	Sem Info	347	7,5	425	9,2	4603	Excluídos da análise							
Categoria de cor	Clara	765	33,6	1512	66,4	2277	Ref							
	Bicolor ou tricolor	945	36,6	1640	63,4	2585	1,02	0,89	1,16	0,779				
	Escura	1454	41,2	2079	58,8	3533	1,21	1,07	1,37	0,002				
	Média	1303	38,6	2073	61,4	3376	1,07	0,95	1,21	0,275				
	Sem Info	163	37,6	271	62,4	434	Excluídos da análise							
Pelagem	Longa	187	22,7	635	77,3	822	Ref							
	Curta	3087	41,3	4380	58,7	7467	2,01	1,67	2,43	0,000				
	Média	922	31,3	2019	68,7	2941	1,39	1,15	1,69	0,001				
	Sem Info	434	44,5	541	55,5	975	Excluídos da análise							
Recolhido na rua	Não	28	28,6	70	71,4	98	Não entrou na análise multivariada devido ao alto número de animais sem informação							
	Sim	746	38,1	1214	61,9	1960	1,54	0,98	2,4	0,054				
	Sem Info	3856	38,0	6291	62,0	10147	Excluídos da análise							
Porte	Pequeno	1918	32,9	3913	67,1	5831	Ref							
	Gigantes	97	42,4	132	57,6	229	Não entrou na análise multivariada devido ao alto número de animais sem informação							
	Grande	253	41,7	353	58,3	606	1,46	1,23	1,73	0,000				
	Médio	1002	44,8	1235	55,2	2237	1,66	1,49	1,83	0,000				
	Sem Info	1360	41,2	1942	58,8	3302	Excluídos da análise							
Faixa etária	Até 1 ano	190	18,3	847	81,7	1037	0,3	0,25	0,36	0,000				
	1-4 anos	1613	35,4	2949	64,6	4562	Não entrou na análise multivariada devido ao alto número de animais sem informação							
	5-8 anos	1086	41,7	1516	58,3	2602	0,73	0,65	0,83	0,000				
	Maior que 9 anos	658	42,7	884	57,3	1542	0,96	0,85	1,09	0,556				
	Sem Info	1083	44,0	1379	56,0	2462	Excluídos da análise							

Fonte: A autora.

A variável sobre o local de requisição do exame mostrou que, quando foi diretamente pelo CCZ, tornou-se um fator protetor com significância, sendo que os testados apresentaram menor prevalência (37,5%) do que os cães oriundos de clínicas particulares (OR = 0,89, $p = 0,016$). Em relação ao sexo, os machos foram significativamente mais infectados do que as fêmeas, com 41,1% e 35,7% de positividade registrada, respectivamente (OR = 1,24, $p < 0,0001$).

Para os grupos de raça, os cães de companhia e os sem raça definida (SRD) foram significativamente menos acometidos pela LVC que os outros grupos de raças testados. Logo, mostrou-se ser um fator protetor para a doença (OR = 0,44, $p < 0,001$; OR = 0,79, $p = 0,012$, respectivamente).

Em relação à pelagem, a cor escura da pelagem foi um fator de risco significativo em comparação às outras categorias de cores, com 41,2% de positividade (OR = 1,21, $p = 0,002$). Já para os tamanhos de pelagem, curto e mediano foram significativamente considerados fatores de risco, com 41,3% (OR = 2,01, $p < 0,001$) e 31,3% de positividade (OR = 1,39, $p = 0,001$), respectivamente. Enquanto isso, os cães com pelo longo tiveram apenas 22,7% de positividade.

Nas análises univariadas, os cães gigantes, grandes e médios foram significativamente mais acometidos pela LVC que os de pequeno porte (OR = 1,50, $p = 0,003$; OR = 1,46, $p < 0,001$; OR = 1,66, $p < 0,001$, respectivamente). Para a idade, os cães até quatro anos de idade foram significativamente menos acometidos que os das outras faixas etárias (OR = 0,30, $p < 0,001$; OR = 0,73, $p < 0,001$, respectivamente).

Em relação aos dados dos casos humanos, eles foram obtidos a partir de informações disponibilizadas pela Vigilância Epidemiológica da Secretaria de Saúde do município. Em seguida, foram plotados nos mapas, junto com os casos caninos e conforme com cada ano avaliado.

A incidência acumulada dos casos humanos, ao longo do período avaliado, foi de 1,39 casos/100 mil habitantes, com letalidade de 31,8% (Tabelas 4 e 5).

Tabela 4. Casos humanos de LV, em Foz do Iguaçu

ANO	CASOS CONFIRMADOS	ÓBITO
2015	2	0
2016	6	3
2017	4	1
2018	6	2
2019	4	1
2020	0	0
Total Geral	22	7

Fonte: SINAN.

Tabela 5. Casos humanos de LV, distribuídos por sexo e faixa etária, em Foz do Iguaçu

	Sexo		Faixa etária (anos)			
	Masculino	Feminino	< 15	15 – 39	40 – 69	> 70
2015	1	1	1	1	0	0
2016	4	2	1	2	3	0
2017	3	1	0	3	0	0
2018	5	1	1	1	3	1
2019	2	2	1	1	3	0
2020	0	0	0	0	0	0
Total	15	7	2	8	9	1

Fonte: SINAN.

5 DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISE ESPACIAL

Os clusters representam a prevalência espacial de casos e o risco relativo, ou seja, o risco do animal ter a doença dentro do cluster em relação à chance de tê-la fora dele. Deste modo, é esperado que o risco de um cão se infectar com LV seja maior na área dentro do cluster, como representado na tabela 1, onde todas as avaliações de risco relativo se mostraram significativas e com mais de 95% de confiança.

O cluster maior, gerado para o ano de 2020, pode ter ocorrido em função da redução drástica da quantidade de amostras coletadas, que ocorreu a partir do momento em que foi decretada a pandemia da covid-19 e o serviço de diagnóstico ficou paralisado. Este fato pode ter gerado um viés nos resultados.

Em março de 2020, estava sendo realizado um trabalho de coleta de sangue de cães em uma área predeterminada. Essa coleta foi feita de casa em casa, em todos os cães presentes no momento da visita; com isso, houve um aumento de casos naquela região (Bairro Três Lagoas), localizada a nordeste do município, e onde houve um caso humano no ano de 2019.

Este esforço de coleta localizado e direcionado iniciou-se como parte de um trabalho para encoleirar os cães da região com coleira repelente, para proteção contra flebotomíneos. Com isso, foram coletadas e testadas 550 amostras no mês de março de 2020. Contudo, em abril, as atividades de campo foram interrompidas devido à pandemia de covid-19, bem como as coletas realizadas no CCZ. Nesse mês, as amostras caíram para sete; a queda geral de amostras em relação aos outros anos analisados pode ter gerado esse viés no cluster.

Em relação às eutanásias realizadas em animais sororreagentes, a proporção dessa intervenção em Foz do Iguaçu é similar à encontrada, por exemplo, em Araçatuba (43%), no interior de São Paulo. Entretanto, ao contrário de Foz do Iguaçu, esta cidade possui altas taxas de transmissão da doença para humanos, atingindo 3,4 casos para cada 100 mil habitantes (BERMUDI *et al.*, 2020).

Cabe ressaltar que esse número de animais eutanasiados é somente o obtido pelo CCZ, em um recorte temporal. Não foi feito o seguimento dos casos para saber se os demais animais que testaram positivo morreram, ou foram eutanasiados em uma clínica particular, por exemplo. Geralmente, a decisão pela eutanásia não demora após o

proprietário do animal receber o resultado, especialmente se o animal tem sinais clínicos; ou se a pessoa alega hipossuficiência econômica para arcar com os custos do tratamento.

Como a LV é uma doença crônica, e o animal pode permanecer oligossintomático, ou mesmo assintomático, muitos diagnosticados com a doença somente vão a óbito ou são eutanasiados meses, até anos após a confirmação da infecção. Há casos, inclusive, de animais diagnosticados em 2015 e que foram eutanasiados somente em 2021 (Fonte: CCZ).

Em relação aos casos humanos, eles foram inseridos em cada ano de ocorrência; porém, esta é uma característica ainda não elucidada. Isto porque o município apresenta poucos casos confirmados de doença humana, apesar da alta prevalência canina.

Esse cenário é diferente do observado em outras cidades, como a capital Belo Horizonte (MG). Borges *et al.* (2009) realizou um estudo retrospectivo, quando Belo Horizonte já tinha casos autóctones de LV há mais de 18 anos. A pesquisa foi conduzida em 246 residências, e os dados mostraram um risco de 2,17 vezes maior de se adquirir LV em uma casa com cães, do que em uma casa sem esses animais (BORGES *et al.*, 2009).

Em um estudo mais recente, também em Belo Horizonte, que avaliou dados entre os anos de 2006 e 2013, foi comprovada uma associação direta entre os casos humanos e caninos. Isso ocorreu principalmente quando os animais sororreagentes não eram eutanasiados, o que reforça a importância do cão no ciclo de transmissão urbano da doença. Ademais, sugere que o contato do cão com o vetor pode ser reduzido através do uso das coleiras repelentes (MORAIS *et al.*, 2020).

Na cidade de Bauru (SP), por sua vez, amostras coletadas de 7% da população estimada de cães resultaram em 5,6% de prevalência de LVC. Então, concluiu-se, com o uso de um modelo estatístico, que existe associação espacial entre os casos humanos e os casos caninos de LV. Inclusive, o risco para humanos aumenta conforme cresce o número de cães na residência, e no entorno (MATSUMOTO *et al.*, 2021).

Nesse mesmo estudo, demonstrou-se que o sexo masculino teve maior prevalência, bem como a faixa etária mais acometida foi acima dos 15 anos (8 casos na faixa de 15 a 39 anos, e 9 casos na faixa de 40 a 69 anos). Isso concorda com os dados obtidos em Campo Grande (MS), entre 2003 e 2008 (OLIVEIRA *et al.*, 2010), e em Araçatuba, de 1998 a 1999 (CAMARGO-NEVES *et al.*, 2001).

5.2 ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA E FATORES DE RISCO

Primeiramente, será discutido porque ser uma amostra proveniente do CCZ foi um “fator protetor com significância”. Se um médico veterinário, em clínica particular, atende um animal e solicita o exame de LV, é porque, provavelmente, ele já realizou um exame clínico. A tendência é que o médico veterinário encaminhe somente as amostras para o CCZ quando há uma suspeita de LV. Isto significa dizer que as amostras que chegam ao CCZ por esta via já passaram por uma “triagem clínica”, ao passo que os animais que são levados diretamente ao CCZ pelos seus proprietários podem apresentar diversos sinais de doença. Não necessariamente esses sinais clínicos são compatíveis com a LV, mas os tutores levam o animal diretamente ao órgão público, que oferece o exame gratuito, ao invés de uma clínica particular.

Com relação ao sexo, as amostras de fêmeas foram predominantes (7.090 fêmeas e 5.055 machos); entretanto os machos foram significativamente mais infectados. Em uma revisão sistemática sobre os fatores associados à LVC, os autores encontraram mais trabalhos referendando essa variável; porém, com baixa significância estatística. Assim, propõem que, mesmo que essa associação exista, ela é considerada fraca (BELO *et al.*, 2013).

Em contrapartida, outros estudos mostram que o fator sexo não teve significância. Esse é o caso da pesquisa realizada na Paraíba (Brasil), em um inquérito com 409 animais de oito municípios da microrregião do Brejo Paraibano (BERNARDINO *et al.*, 2020). Da mesma forma, em Lisboa, um estudo com 1.823 cães não encontrou diferença significativa com relação ao sexo mais acometido (ABRANCHES *et al.*, 1991); outro estudo, também em Portugal, encontrou o mesmo resultado para uma amostragem de 3974 cães (CORTES *et al.*, 2012).

Para a categoria de raça, os grupos organizados como cães de companhia foram aquelas raças pequenas, com comportamento e convívio supostamente mais próximo ao ser humano (Shitzu, Lhasa Apso, Yorkshire Terrier, Pinscher etc.). Essa categoria e a dos “sem raça definida (SRD)” foram significativamente menos acometidos dentre os outros grupos de raças. No estudo previamente citado, em Lisboa, também realizaram esta categorização de raças em: “guarda”, “caça” e “cães de casa”; porém, não encontraram diferenças significativas. Contudo, o autor concorda com a hipótese dos animais que se encontram mais próximos ao homem estariam mais protegidos da ação dos

flebotomíneos (que ficam no peridomicílio); enquanto isso, aqueles considerados cães “de guarda” ficariam mais expostos durante a noite (ABRANCHES *et al.*, 1991).

No âmbito brasileiro, o estudo de AMORA *et al.* (2006) também encontrou, em Mossoró – RN, que os animais de guarda foram significativamente mais acometidos pela LVC. Para os animais considerados de raças pequenas, ou animais “de companhia”, pode-se pressupor que eles vivam a maior parte do tempo dentro de casa, com menor exposição ao flebotomíneo. Isto concorda com os resultados obtidos no estudo realizado na Itália, com 150 animais positivos (CIARAMELLA *et al.*, 1997). Entretanto, o mesmo não poderia ser afirmado em relação aos animais SRDs, similarmente aos dados encontrados em uma meta-análise que avalia, entre outros fatores, a falta de significância na predisposição racial (BELO *et al.*, 2013).

Com relação à cor da pelagem, o resultado foi que a cor escura foi um fator de risco significativo com relação às outras categorias de cores. Isso talvez seja explicado por uma possível atração do inseto à cor do pelo. Para esta variável, não foi encontrada referência específica em literatura, mas no estudo realizado em Lisboa, os cães das raças Rottweiler e Pastores Alemães foram os mais acometidos (ABRANCHES *et al.*, 1991), ambos com a cor preta predominante.

Em Ibiza, na Espanha, um estudo avaliou 3141 cães, sendo que houve prevalência estatística significativa para os animais das raças Doberman Pinscher e Boxer (EDO *et al.*, 2021). Apesar de não mencionar a cor desses animais, mas sabe-se que existem na cor preta e suas variações, como preto com marrom (a cor mais comum para os Doberman Pinscher), preto e branco, ou ainda, padrão tigrado para o boxer, com um tom escuro de pelagem.

Além disso, em estudos sobre captura de flebotomíneos com armadilhas do tipo Shannon, percebeu-se que naquelas feitas com tecido preto, atraiu-se mais desses insetos que a Shannon tradicional, de tecido branco (GALATI *et al.*, 2010). Entretanto, cabe ressaltar que este estudo foi realizado na Serra da Bodoquena – MS, e capturou mais espécies silvestres de flebotomíneos, e não o *Lutzomyia longipalpis*; as condições eram totalmente diferentes do meio urbano.

Com relação à pelagem (comprimento do pelo), os tamanhos de pelagem curto e mediano foram significativamente considerados fatores de risco. Podemos inferir que o comprimento do pelo longo proteja o animal das picadas do “mosquito-palha”, o que já é registrado em literatura. Por exemplo, o estudo de coorte realizado em Jequié, na Bahia,

no qual esta variável foi o fator preditivo mais forte na análise multivariada envolvendo 447 cães (MOREIRA *et al.*, 2003).

Na meta-análise de BELO *et al.* (2013), houve significância estatística nas onze publicações analisadas para esta variável. Logo, é fácil supor que o pelo longo no corpo, nas orelhas e na face, acaba por dificultar a ação de um inseto tão pequeno quanto o *Lutzomyia longipalpis*, concordando com os resultados de outras pesquisas realizadas em Portugal (CORTES *et al.*, 2012), em Governador Valadares – MG (LEAL *et al.*, 2018) e, previamente, em Foz do Iguaçu (DIAS *et al.*, 2020).

Já em Ibiza, apesar de o estudo ter registrado a prevalência com significância estatística de LVC em animais de raças de pelo curto (Doberman Pinscher, Boxer, Weimaraner, Pointer, Dogue Alemão, Dogue de Bordeaux, Pastor de Maiorca), esta foi atribuída a um polimorfismo genético em um gene específico ligado à raça (Slc11A1). Isto é especialmente válido para o Doberman Pinscher e o Boxer, mas que também se manifesta em cães da raça Cocker Spaniel, de pelo longo. Assim, os autores relatam que não há estudos genéticos suficientes, até o momento, para explicar as diferentes prevalências entre raças geneticamente semelhantes (EDO *et al.*, 2021).

Para o porte dos animais, os cães de pequeno porte foram significativamente menos afetados que os gigantes, grandes e médios, ainda que haja poucos dados de literatura. Este dado já havia sido demonstrado na coleta realizada em 2015, em Foz do Iguaçu (THOMAZ SOCCOL *et al.*, 2017). Da mesma forma, as raças Pastor Alemão, Boxer e Rottweiler foram mais acometidas no estudo de ABRANCHES *et al.* (1991).

Em contrapartida, o resultado encontrado em Ibiza não coincide com os nossos resultados, uma vez que eles encontraram cães de porte pequeno (Pinscher) no grupo de raças com maior prevalência (EDO *et al.*, 2021). Apesar do porte do animal ser frequentemente considerado com sendo fator de risco para cães maiores; esse fator perde importância quando confrontado com outra variável, se passa a maior parte do tempo dentro ou fora de casa, ou seja, variando sua exposição à ação do flebotômico (COSTA *et al.*, 2018).

Na categoria de faixa etária, os cães com menos de quatro anos de idade foram significativamente menos acometidos que os das outras faixas etárias, o que também já foi demonstrado em outras análises (MOREIRA JR *et al.*, 2003; MIRANDA *et al.*, 2008; COURA-VITAL *et al.*, 2011; CORTES *et al.*, 2012; BELO *et al.*, 2013; DIAS *et al.*, 2018). Por exemplo, o estudo de MAZIERO *et al.* (2014), no interior de Santa Catarina propõe que os animais ali testados na faixa etária de dois a seis anos seriam os mais acometidos

por serem mais ativos. Naquele local, especificamente, eles teriam mais contato com áreas silvestres, estando mais expostos aos flebotomíneos, que têm hábitos noturnos.

Outras possíveis explicações para isso são algumas hipóteses, como o fato de um filhote geralmente ficar mais restrito, ou o seu sistema imune poderia não responder adequadamente, a ponto de ser detectado precocemente em testes sorológicos (BELO *et al.*, 2013). Um baixo nível de resposta humoral também poderia explicar que a doença não seja detectada precocemente, mas sim, alguns anos após o animal ter se infectado (COURA-VITAL *et al.*, 2011; MIRANDA *et al.*, 2008). Outros estudos apontam que a reposição de animais em uma população é alta, e isso favorece a manutenção do ciclo da doença, pois os animais recém-introduzidos, geralmente, são susceptíveis à infecção (ANDRADE *et al.*, 2008; NUNES *et al.*, 2008). Mesmo que animais morram por LV, normalmente, os proprietários não adotam medidas de prevenção para os novos animais adquiridos (COSTA *et al.*, 2018).

Sobre a alta prevalência de LVC encontrada ao longo dos anos analisados neste estudo, pode-se considerar um possível viés nos dados, já que os cães que são levados ao CCZ, geralmente não passam por consulta prévia com um médico veterinário particular. Isso explicaria também porque o animal que passa por consulta com um médico veterinário particular teve o risco aumentado em 0,89 vezes. Na verdade, isso se deve ao fato de a consulta servir como uma triagem para o diagnóstico da doença; então, as amostras de sangue encaminhadas ao CCZ já têm uma suspeita clínica mais consistente.

Em 2015 foi realizada uma pesquisa onde foram coletadas amostras de sangue de 1129 cães em toda a área do município, de forma randomizada, e a prevalência encontrada foi de 23,8% (THOMAZ SOCCOL *et al.*, 2017). A essas amostras, foram somadas as demais que entraram por demanda espontânea ou vindas de clínicas veterinárias; então a prevalência subiu para 37,43% naquele ano. A explicação para essa diferença é mais ou menos a mesma: quando um animal é levado ao CCZ para a realização de um exame, ele geralmente já tem algum sinal clínico, e nas amostras coletadas aleatoriamente, os animais eram testados, independentemente de ter sinais clínicos ou não.

Com relação à prevalência geral ter sofrido um decréscimo em março, talvez isso se deva ao fato de um grande número de amostras ter sido coletado durante o mês de março em 2020, pois houve coleta de sangue em uma área predeterminada. Isto é, todos os animais presentes no momento da visita eram coletados, independentemente de

estarem sintomáticos ou assintomáticos. Esse fato pode ter resultado em um certo viés, pois, com uma amostra proporcionalmente maior do que em outros anos, a média foi puxada para baixo.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora a incidência de casos humanos no município seja menor do que a média nacional, a ocorrência de casos humanos aconteceu nas áreas com maior número de casos caninos. Este dado deve ser avaliado ao longo do tempo, pois em 2020, a Procuradoria-Geral do Município expediu um parecer proibindo a eutanásia de cães cujos donos apenas alegassem a falta de recursos. O seguimento de casos e novos estudos podem auxiliar na conclusão se a redução na eliminação de animais positivos influencia na incidência de casos humanos.

Os fatores de risco encontrados para os cães neste estudo são: a procedência da amostra ser de uma clínica veterinária, o porte médio a grande, o pelo curto, a cor preta, o sexo (machos) e idade superior a dois anos.

7 REFERÊNCIAS

- ABRANCHES, A. P.; JANZ, G.. 1991. *Canine leishmaniasis: pathological and ecological factors influencing transmission of infection*. **Allen Press on Behalf of American Society of Parasitologists**, v. 77, n. 4, p. 557-561. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1865262/> >. Acesso em: 12 fev. 2021.
- ALMEIDA, V. A.. 2017. **Alterações na medula óssea e distúrbios hematológicos na leishmaniose visceral canina**. Orientadores: SANTOS, Washington Luis Conrado dos. 101 f.. Tese (Doutorado) - PPG-P (Programa de Pós-Graduação em Patologia), FIOCRUZ (Fundação Oswaldo Cruz), Salvador, Estado da Bahia. Disponível em: < <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/19339> >. Acesso em: 14 out. 2021.
- ALVES, W. A.; BEVILACQUA, P. D.. 2004. *Quality of diagnosis of canine visceral leishmaniasis in epidemiological surveys: an epidemic in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, 1993-1997*. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 20, n. 01, p. 259-265. Disponível em: < <https://www.scielo.br/j/csp/a/S9f9qLJprgxD4NSswDm6fx/abstract/?lang=en> >. Acesso em: 14 out. 2021.
- AMORA, S. S. A.; *et al.*. 2006. Fatores relacionados com a positividade de cães para leishmaniose visceral em área endêmica do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Cienc. Rural**, v. 36, p. 1854-1859. Disponível em: < <https://www.scielo.br/j/cr/a/yGrVwfKC8wzG3trbyhsXvsp/?lang=pt> >. Acesso em: 12 fev. 2021.
- ANDRADE, A. M.; *et al.*. 2008. Estudo descritivo da estrutura populacional canina da área urbana de Araçatuba, São Paulo, Brasil, no período de 1994 a 2004. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 24, n. 04, p. 927-932. Disponível em: < <https://www.scielo.br/j/csp/a/xf7Y75mGw4DBJ4B7KBHGcDt/abstract/?lang=pt> >. Acesso em: 12 fev. 2021.
- ANVERSA, L. S.; *et al.*. 2018. *Human leishmaniasis in Brazil: a general review*. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 64, n. 03, p. 281-289. Disponível em: < <https://www.scielo.br/j/ramb/a/wwwKNdvWPwzG45FYr9dHWXQ/abstract/?lang=en> > Acesso em: 12 fev. 2021.
- ARAÚJO, V. E. M.; *et al.*. 2012. *Early Clinical Manifestations Associated with Death from Visceral Leishmaniasis*. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 06, n. 02. Disponível em: < <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0001511#:~:text=%5B4%5D%20reported%20that%20the%20death,than%2060%20days%20and%20diarrhea> > Acesso em: 14 out. 2021.
- BARRETO, M. L.; *et al.*. 2011. *Successes and failures in the control of infectious diseases in Brazil: social and environmental context, policies, interventions, and research needs*. **The Lancet**, v. 377, p. 1877-1889. Disponível em: < [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(11\)60202-X/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(11)60202-X/fulltext) >. Acesso em: 12 fev. 2021.
- BELO, V. S.; *et al.*. 2013. *Factors associated with visceral leishmaniasis in the Americas: a systematic review and meta-analysis*. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 07, n. 04.

Disponível em: < <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0002182> >. Acesso em: 12 fev. 2021.

BERMUDI, P.; *et al.*. 2020. *Canine serological survey and dog culling ant its relationship with human visceral leishmaniasis in an endemic urban area.* **BMC infectious diseases**, v. 20, n. 01. Disponível em: < <https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-020-05125-0> >. Acesso em: 14 out. 2021.

BERNARDINO, M. D. G. D. S; *et al.*. 2020. *High seroprevalence and associated factors for visceral leishmaniasis in dogs in a transmission area of Paraíba state, Northeastern Brazil.* **Rev Bras Parasitol Vet.** v. 29, n. 02. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbpv/a/qQNDQNVbhLRFcrxSsfyMQWF/?lang=en>>. Acesso em: 12 fev. 2021.

BEZERRA, J.; *et al.*. 2018. *Burden of leishmaniasis in Brazil and federated units, 1990-2016: findings from global burden of disease study 2016.* **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 09. Disponível em: < <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0006697> >. Acesso em: 14 out. 2021.

BORGES, B. K. A.; *et al.*. 2009. Presença de animais associada ao risco de transmissão da leishmaniose visceral em humanos em Belo Horizonte, Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 05, p. 1035-1043. Disponível em: < <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/6pFnDGVSMhKcY88yf5ghf5f/abstract/?lang=pt> >. Acesso em: 12 fev. 2021.

BORJA, L. S.; *et al.*. 2016. *Parasite load in the blood and skin of dogs naturally infected by Leishmania infantum is correlated with their capacity to infect sand fly vectors.* **Veterinary Parasitology**, v. 229, p. 110-117. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27809965/> >. Acesso em: 14 out. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. 2006. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral**. Brasília: Ministério da Saúde. Disponível em: < https://bvsm.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmaniose_viscerar.pdf >. Acesso em: 14 out. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. 2014. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral**. Brasília: Ministério da Saúde. Disponível em: < https://bvsm.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmaniose_viscerar_led_icao.pdf >. Acesso em: 14 out. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. 2011. Nota Técnica Conjunta nº. 2011/01 – CGDT-CGLAB/DEVIT/SVS/MS. **Esclarecimentos sobre substituição do protocolo diagnóstico da leishmaniose visceral canina (LVC)**. Brasília: Ministério da Saúde. Disponível em: < http://www.sgc.goias.gov.br/upload/arquivos/2012-05/nota-tecnica-no.-1-2011_cglab_cgdt1_lvc.pdf >. Acesso em: 12 fev. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. Sistema de Informação de Agravos de Notificação. 2021. **Guia de Vigilância em Saúde**. 5^a. ed.. Brasília: Ministério da Saúde. Disponível em: <<http://portalsinan.saude.gov.br/dengue>>. Acesso em: 14 out. 2021.

BRAZUNA, J. C. M.; *et al.*. 2012. Perfil e distribuição geográfica de casos notificados de leishmaniose visceral na cidade de Campo Grande, Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil, entre 2002 e 2009. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 45, n. 05. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/fpsydykPRp7mLwjtQRZRYhBN/abstract/?lang=pt>>. Acesso em: 12 fev. 2021.

CÂMARA, G.; CARVALHO, M. S.. 2004. **Análise espacial de dados geográficos**. Planaltina: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Cerrados (Embrapa Cerrados), p. 53-122. Disponível em: <<http://livimagens.sct.embrapa.br/amostras/00075490.pdf>>. Acesso em: 12 fev. 2021.

CAMARGO-NEVES, V. L. de; CRUZ, O. G.; KATZ, G.. 2001. Utilização de ferramentas de análise espacial na vigilância epidemiológica de leishmaniose visceral americana – Araçatuba, São Paulo, Brasil, 1998-1999. **Cad. Saúde Pública**, v. 17, n. 05, p. 1263-1267. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/csp/a/y3ks5V3h8jVzHwbtYZSR7NP/?lang=pt>>. Acesso em: 14 out. 2021.

CARVALHO JUNIOR, C. G.; *et al.*. 2016. *Parasitism and inflammation in ear skin and in genital tissues of symptomatic and asymptomatic male dogs with visceral leishmaniasis*. **Parasitology Research**, v. 116, n. 03, p. 987-995. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28160074/>>. Acesso: 14 out. 2021.

CARVALHO, M. R. de; *et al.*. 2010. *Natural leishmania infantum infection in Migonemyia migonei (França,1920) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) the putative vector of visceral leishmaniasis in Pernambuco State, Brazil*. **Acta Tropica**, Amsterdam, v. 116, n. 01, p. 108-110. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20457120/>>. Acesso em: 14 out. 2021.

CIARAMELLA, P., *et al.*. 1997. *A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by Leishmania infantum*. **Veterinary Record**, v. 141, n. 539-543. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9413121/>>. Acesso em: 12 fev. 2021.

CORTES, S.; VAZ, Y.; *et al.*. 2012. *Risk factors for canine leishmaniasis in an endemic Mediterranean region*. **Vet. Parasitol.**, v. 26, n. 02-04, p.189-196. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304401712002269>>. Acesso em: 12 fev. 2021.

COSTA, D. N. C. C.; *et al.*. 2013. *Culling Dogs in Scenarios of Imperfect Control: Realistic Impact on the Prevalence of Canine Visceral Leishmaniasis*. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 07, n. 08. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0002355>>. Acesso em: 14 out. 2021.

COSTA, D. N. C. C.; *et al.*. 2018. *Canine visceral leishmaniasis in Araçatuba, state of São Paulo, Brazil, and its relationship with characteristics of dogs and their owners: a cross-sectional and spatial analysis using a geostatistical approach*. **BMC Vet Res.**, v. 31, n. 01. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30124171/> > . Acesso em: 14 out. 2021.

COURA-VITAL, W.; *et al.*. 2011. *Prevalence and factors associated with Leishmania infantum infection of dogs from an urban area of Brazil as identified by molecular methods*. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 05, n. 08. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21858243/>>. Acesso em: 14 out. 2021.

COURA-VITAL, W., *et al.*. 2013. *Canine Visceral Leishmaniasis: Incidence and Risk Factors for Infection in a Cohort Study in Brazil*, **Veterinary Parasitology**, v. 197, p. 411-417. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23941965/>>. Acesso em: 14 out. 2021.

DANTAS-TORRES, F.; BRANDÃO-FILHO, S. P.. 2006. *Visceral Leishmaniasis In Brazil: Revisiting Paradigms Of Epidemiology And Control*. **Rev. Inst. Med. Trop.**, v. 48, n. 03, p. 151-156. Disponível em: < <https://www.scielo.br/j/rimtsp/a/cbTMtzSd7QtS987Z4VBY3nC/?lang=en> >. Acesso em: 12 fev. 2021.

DIAS, R. A.; *et al.*. 2004. *Estimativa de populações canina e felina domiciliadas em zona urbana do Estado de São Paulo*. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, n. 04, p. 565-570. Disponível em: < <https://www.scielo.br/j/rsp/a/G9VYwGtHxjzXQHcPgHt8xx/abstract/?lang=pt> >. Acesso em: 12 fev. 2021.

DIAS, R. C. F.; *et al.*. 2018. *Variables associated with the prevalence of anti-Leishmania spp. antibodies in dogs on the tri-border of Foz do Iguaçu, Paraná, Brazil*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 27, n. 03. Disponível em: < <https://www.scielo.br/j/rbpv/a/yymbQtzZm9jFdGWSwHd9Tsd/?lang=en> >. Acesso em: 14 out. 2021.

DIAS, R. C. F.; *et al.*. 2020. *Autochthonous canine visceral leishmaniasis cases occur in Paraná state since 2012: isolation and identification of Leishmania infantum*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 29, n. 01. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbpv/a/RWSPRZnp7PGgQprLqCjD6PQ/?lang=en>>. Acesso em: 14 out. 2021.

DRUMOND, K. O.; COSTA, F. A.. 2011. *Forty years of visceral leishmaniasis in the State of Piauí: a review*. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 53, n. 01, p. 03-11. Disponível em: < <https://www.scielo.br/j/rimtsp/a/5C9KVGs6L6rHZsntPRZRhdC/?lang=en> >. Acesso em: 12 fev. 2021.

EDO, M.; MARÍN-GARCÍA, P. J.; LLOBAT, L.. 2021. *Is the Prevalence of Leishmania infantum Linked to Breeds in Dogs? Characterization of Seropositive Dogs in Ibiza*. **Animals (Basel)**, v. 11, n. 09. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8466328/> >. Acesso em: 15 mar. 2022.

FIGUEIREDO, F. B.; *et al.*. 2008. *First report of natural infection of a bush dog (Speothos venaticus) with Leishmania (Leishmania) chagasi in Brazil*. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 102, n. 02, p. 200-201. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18036627/> >. Acesso em: 12 fev. 2021.

GALATI, E. A. B.; *et al.*. 2010. *Phlebotomines (Diptera, Psychodidae) in the speleological province of the Ribeira Valley: 3. Serra district – area of hostels for tourists who visit the Parque Estadual do Alto Ribeira (PETAR), state of São Paulo, Brazil.* **Rev. Bras. Entomol.**, v. 54, n. 04, p. 665-676. Disponível em: < <https://www.scielo.br/j/rbent/a/rDzRCfXrJWbwCTNXvZnsH4q/?lang=en> >. Acesso em: 12 fev. 2021.

GALVIS-OVALLOS, F.; *et al.*. 2020. Leishmanioses no Brasil: aspectos epidemiológicos, desafios e perspectivas. *In*: MENEGUETTI, D. U. O.; OLIVEIRA, J.; CAMARGO, L. M. A. (ed). **Atualidades em Medicina Tropical no Brasil: Protozoários**, p. 227-252.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. 2021. **Panorama – Foz do Iguaçu**: estimativas da população residente com data de referência 1º de julho de 2021. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pr/foz-do-iguacu/panorama>>. Acesso em: 14 out. 2021.

KAZIMOTO, T. A.; *et al.*. 2018. *Impact of 4% deltamethrin-impregnated dog collars on the prevalence and incidence of canine visceral leishmaniasis.* **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 18, n. 07, p. 356-363. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29683394/> >. Acesso em: 14 out. 2021.

KULLDORFF, M.; NAGARWALLA, N.. 1995. *Spatial disease clusters: detection and inference.* **Statistics in Medicine**, v. 14, p. 799-810. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7644860/> >. Acesso em: 12 fev. 2021.

LAINSON, R.; *et al.*. 1987. *American visceral leishmaniasis: on the origin of Leishmania (Leishmania) chagasi.* **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 81, n. 03, p. 517. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3686647/> >. Acesso em: 12 fev. 2021.

LAINSON, R.; RANGEL, B. F.. 2005b. *Lutzomyia longipalpis and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil - a review.* **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 08, p. 811-827. Disponível em: < <https://www.scielo.br/j/mioc/a/7qNzZ67fX9gksRZLYry6wnH/> >. Acesso em: 12 fev. 2021.

LAURENTI, M. D; *et al.*. 2013. *Asymptomatic dogs are highly competent to transmit Leishmania (Leishmania) infantum chagasi to the natural vector.* **Vet Parasitol.** v. 23, n. 03-04, p. 296-300. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23562649/> >. Acesso em: 14 out. 2021.

LEAL, G. G. de A.; *et al.*. 2018. *Risk profile of Leishmania infection in dogs coming from an area of visceral leishmaniasis reemergence.* **Preve. Veter. Medicine**, v. 150, n. 01, p. 01-07. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29406075/> >. Acesso em: 12 fev. 2021.

LOPES, P. M.; *et al.*. 2014. *Seroprevalence and risk factors associated with visceral leishmaniasis in dogs in Jaciara, State of Mato Grosso.* **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 47, n. 06, p. 791-795. Disponível em: < <https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/Lrtp3FBcSYCJJkgJwnRHdcs/?lang=en> >. Acesso em: 12 fev. 2021.

MADEIRA, M. F.; *et al.*. 2009. *Parasitological diagnosis of canine visceral leishmaniasis: is intact skin a good target?* **Res. Vet. Sci.**, v. 87, n. 02, p. 260-262. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19364614/> >. Acesso em: 12 fev. 2021.

MAIA, C.; CAMPINO, L.. 2008. *Methods for diagnosis of canine leishmaniasis and immune response to infection.* **Veterinary Parasitology**, v. 158, n. 04, p. 274-287. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18789583/> >. Acesso em: 15 mar. 2022.

MATSUMOTO, P. S. S.; *et al.*. 2021. *Impact of the dog population and household environment for the maintenance of natural foci of Leishmania infantum transmission to human and animal hosts in endemic areas for visceral leishmaniasis in Sao Paulo state, Brazil.* **PLoS ONE**, v. 16, n. 08. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0256534>>. Acesso em: 15 mar. 2022.

MAZEIRO, N.; *et al.*. 2014. *Rural-urban focus of canine visceral leishmaniosis in the far western region of Santa Catarina State, Brazil.* **Veterinary Parasitology**, v. 205, n. 01-02, p. 92-95. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25023635/> >. Acesso em: 12 out. 2021.

MENDONÇA, I. L.; *et al.*. 2017. *Serological tests fail to discriminate dogs with visceral leishmaniasis that transmit Leishmania infantum to the vector Lutzomyia longipalpis.* **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 50, n. 04, p. 483-488. Disponível em: < <https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/YN4XJbgBGwjHqPGWmdtGS8H/?lang=en> >. Acesso em: 12 fev. 2021.

MIRANDA, S.; *et al.*. 2008. *Characterization of sex, age, and breed for a population of canine leishmaniosis diseased dogs.* **Research in Veterinary Science**, v. 85, n. 01, p. 35-38. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17942128/>>. Acesso em: 14 out. 2021.

MIRÓ, G.; LÓPEZ-VÉLEZ, R.. 2018. *Clinical management of canine leishmaniosis versus human leishmaniasis due to Leishmania infantum: Putting “One Health” principles into practice.* **Veterinary Parasitology**, v. 254, p. 151-159, 30 abr.. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29657002/> > Acesso em: 14 out. 2021.

MORAIS, R. C. S. de.. 2015. **Aplicabilidade de técnica de PCR em tempo real para caracterização de espécies de Leishmania.** Orientadores: CAVALCANTI, Milena de Paiva. 61 f.. Dissertação (Mestrado) - PPG-C (Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia em Saúde), FIOCRUZ (Fundação Oswaldo Cruz), Recife, Estado de Pernambuco. Disponível em: < <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/12756> > Acesso em: 15 mar. 2022.

MORAIS, M. H. F.; *et al.*. 2020. *Visceral leishmaniasis control actions: epidemiological indicators for its effectiveness evaluation in a Brazilian urban area.* **Cad Saúde Pública**, v. 08, n. 06. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/csp/a/mWRYPCfvpZm6TmWJXjZyXwh/?lang=en>>. Acesso em: 14 out. 2021.

MOREIRA, J. R.; *et al.*. 2003. *Peridomestic risk factors for Canine Leishmaniasis in urban dwellings: new findings from a prospective study in Brazil.* **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 69, n. 04, p. 393-397. Disponível em: < <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/19396> >. Acesso em: 14 out. 2021

MORENO, J., ALVAR, J.. 2002. *Canine leishmaniasis: epidemiological risk and the experimental model*. **Trends Parasitology**, v. 18, p. 399-405. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12377257/> >. Acesso em: 12 fev. 2021.

NASCIMENTO, B. W. L.; et al.. 2013. *Study of sand flies (Diptera: Psychodidae) in visceral and cutaneous leishmaniasis areas in central western of Minas Gerais state - Brazil*. **Acta Tropica**, v. 125, n. 03, p. 262-268. Disponível em: < <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/30010> >. Acesso em: 12 fev. 2021.

NUNES, C. M.; et al.. 2008. *Dog culling and replacement in an area endemic for visceral leishmaniasis in Brazil*. **Veterinary Parasitology**, v. 153, n. 01-02, p. 19-23. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18314275/> > . Acesso em: 12 fev. 2021.

NUNES, C. M.; et al.. 2010. *Relationship between dog culling and incidence of human visceral leishmaniasis in an endemic area*. **Veterinary Parasitology**, v. 170, n. 01-02, p. 131-133. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20181428/> >. Acesso em: 14 out. 2021.

OLIVEIRA, J. M.; et al.. 2010. Mortalidade por leishmaniose visceral: aspectos clínicos e laboratoriais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 02, pp. 188-193. Disponível em: < <https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/L9G9SrhyCpqvqVmQCnWrVr/abstract/?lang=pt> > Acesso em: 12 fev. 2021.

OLIVEIRA, A. M.; et al.. 2016. *Dispersal of Lutzomyia longipalpis and expansion of canine and human visceral leishmaniasis in São Paulo State, Brazil*. **Acta Tropica**, v. 164, p. 233-242. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27640322/> > Acesso em: 15 mar. 2022.

OTRANTO, D.; DANTAS-TORRES, F.. 2013. *The prevention of canine leishmaniasis and its impact on public health*. **Trends Parasitol**, v. 29, n. 07, p. 339-345. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23746747/> >. Acesso em: 14 out. 2021.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. 2021. **Leishmanioses**: Informe Epidemiológico das Américas. Washington, D.C., EUA: OPAS, n. 10. Disponível em: < <https://www.paho.org/pt/documentos/leishmanioses-informe-epidemiologico-das-americas-no-10-dezembro-2021#:~:text=Este%20informe%20apresenta%20uma%20an%C3%A1lise,e%20mucosa%20nos%20pa%C3%ADses%20end%C3%AAmicos> >. Acesso em: 15 mar. 2022.

PALATNIK-DE-SOUSA, C. B.; et al.. 2004. *Improving methods for epidemiological control of canine visceral leishmaniasis based on a mathematical model. Impact on the incidence of the canine and human disease*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 76, n. 03, p. 583-593. Disponível em: < <https://www.scielo.br/j/aabc/a/gQqb6QGtJRwJS5dDdWH6m4C/?lang=en> > Acesso em: 14 out. 2021.

PALTRINIERI, S.; et al.. 2010. *Guidelines for diagnosis and clinical classification of leishmaniasis in dogs*. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 236, p. 1184-1191. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20513195/> >. Acesso em: 12 fev. 2021.

PASQUALI, A. K. S.; *et al.*. 2019. *Dispersion of Leishmania (Leishmania) infantum in central-southern Brazil: Evidence from an integrative approach. PLOS Neglected Tropical Diseases*, v. 13, n. 08. Disponível em: < <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0007639> >. Acesso em: 12 fev. 2021.

PFEIFFER, D.; *et al.*. 2008. *Spatial analysis in epidemiology*. Oxônia, Reino Unido: Oxford University Press.

QUEIROZ, N. M. G. P.; *et al.*. 2011. *Detection of Leishmania (L.) chagasi in canine skin. Veterinary Parasitology*, v. 178, n. 01-02, p. 01-08. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21295916/> >. Acesso em: 12 fev. 2021.

RABELLO, A.; ORSINI, M.; DISCH, J.. 2003. *Leishmania/HIV co-infection in Brazil: an appraisal. Ann. Trop. Med. Parasitol.*, v. 01, p. 17-28. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14678630/> >. Acesso em: 14 out. 2021.

REIS, L. E. S.; *et al.*. 2013. *Molecular diagnosis of canine visceral leishmaniasis: A comparative study of three methods using skin and spleen from dogs with natural Leishmania infantum infection. Veterinary Parasitology*, v. 197, n. 03-04, p. 498-503. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23953760/> >. Acesso em: 12 fev. 2021.

RODRIGUES, T. F.; *et al.*. 2020. *Spatial and seroepidemiology of canine visceral leishmaniasis in an endemic Southeast Brazilian area. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* [online], v. 53. Disponível em: < <https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/XJZkm4wFSCqx5TrJHrds36H/?lang=en> >. Acesso em: 12 fev. 2021.

ROMERO, G.A.S; BOELAERT, M.. 2010. *Control of visceral leishmaniasis in Latin America: a systematic review. PLoS Neglected Tropical Disease*, v. 04, n. 01, p. 584. Disponível em: < <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0000584> >. Acesso em: 12 fev. 2021.

ROQUE, A. L. R.; JANSEN, A. M.. 2014. *Wild and synanthropic reservoirs of Leishmania species in the Americas. International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, v. 03, p. 251-262. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4241529/> >. Acesso em: 14 out. 2021.

SANTOS, S. O.; *et al.*. 1998. *Incrimination of Lutzomyia cruzi as a vector of American Visceral Leishmaniasis. Med. Vet. Entomol.*, v. 12, n. 315-317. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9737605/> >. Acesso em: 12 fev. 2021.

SANTOS, D. R. dos; FERREIRA, A. C.; BISETTO JUNIRO, A.. 2012. *The first record of Lutzomyia longipalpis (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in the state of Paraná, Brazil. Rev. Soc. Bras. Med. Tro.*, v. 45, n. 05, p. 643-645. Disponível em: < <https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/MNvxBGyPztpvkrJQpZprQSp/abstract/?lang=en> >. Acesso em: 12 fev. 2021.

SEVÁ, A. P.. 2014. **Impacto de Diferentes Métodos de Controle na Dinâmica da Leishmaniose Visceral em Áreas Endêmicas do Brasil**. Orientadores: Nome do

Orientador; Nome do Coorientador. 103 f.. Tese (Doutorado) - PPG-EEAZ (Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses), USP (Universidade de São Paulo), São Paulo, Estado de São Paulo. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10134/tde-20022015-141318/publico/ANAIA_PAIXAO_SEVA_Corrigida.pdf>. Acesso em: 15 mar. 2022.

SEVÁ, A. P.; *et al.*. 2016. *Canine-Based Strategies for Prevention and Control of Visceral Leishmaniasis in Brazil*. **PLoS one**, v. 11, n. 07. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0160058>>. Acesso em: 14 out. 2021.

SEVÁ, A. P.; FERREIRA, F.; AMAKU, M.. 2020. *How much does it cost to prevent and control visceral leishmaniasis in Brazil? Comparing different measures in dogs*. **PLoS One**, v. 21, n. 15. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0236127>>. Acesso em: 14 out. 2021.

SILVA, V. G. da.. 2016. **Aspectos entomológicos e infecção natural dos flebotomíneos por *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* em municípios do estado de São Paulo com autoctonia de transmissão de leishmaniose visceral humana e/ou canina**. Orientadores: TOLEZANO, José Eduardo. 135 f.. Dissertação (Mestrado) - PPG-C (Programa de Pós-Graduação em Ciências), SSP/SP (Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, Coordenadoria de Controle de Doenças), São Paulo, Estado de São Paulo. Disponível em: <<https://docs.bvsalud.org/biblioref/ses-sp/2016/ses-34218/ses-34218-6339.pdf>>. Acesso em: 14 out. 2021.

SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO. 2013. **Leishmaniose visceral**. Brasília: Ministério da Saúde. Disponível em: <<http://portalsinan.saude.gov.br/leishmaniose-visceral>>. Acesso em: 15 mar. 2022.

STEINDEL, M.; *et al.*. 2013. *Outbreak of autochthonous canine visceral leishmaniosis in Santa Catarina, Brazil*. **Small Animal Diseases**, v. 33, n. 04. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/pvb/a/Jg8grVqpbwwVyPDVwHZ9BWL/?lang=en>>. Acesso em: 12 fev. 2021.

THOMAZ-SOCCOL, V.; *et al.*. 2009. Casos alóctones de leishmaniose visceral canina no Paraná, Brasil: implicações epidemiológicas. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 03, p. 46-51. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbpv/a/9CSdvLx3RSFBNhgcDnkcBJC/?lang=pt>>. Acesso em: 12 fev. 2021.

THOMAZ-SOCCOL, V.; *et al.*. 2017. *More than the eyes can see: The worrying scenario of canine leishmaniasis in the Brazilian side of the triple border*. **PLoS ONE**, v. 12, n. 12. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0189182>>. Acesso em: 12 fev. 2021.

TRAVI, B. L.; *et al.*. 2002. *Susceptibility of spiny rats (*Proechimys semispinosus*) to *Leishmania (Viannia) panamensis* and *Leishmania (Leishmania) chagasi**. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 06, p. 887-892. Disponível em:

<<https://www.scielo.br/j/mioc/a/qn67nnpYbPY6gVDZ4S9WTVq/?lang=en>>. Acesso em: 14 out. 2021.

TRAVI, B. L.; *et al.*. 2018. *Canine visceral leishmaniasis: Diagnosis and management of the reservoir living among us*. **PLoS Negl Trop Dis.**, v. 12, n. 01. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0006082>>. Acesso em: 14 out. 2021.

VON ZUBEN, A. P. B.; DONALÍSIO, M. R.. 2016. Dificuldades na execução das diretrizes do Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral em grandes municípios brasileiros. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 32, n. 06, p. 01-11. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/csp/a/PLxTwhgysWd8JyCYrrnmnTM/abstract/?lang=pt>>. Acesso em: 15 mar. 2022.

WERNECK, G. L. (ed.). 2010. Expansão geográfica da leishmaniose visceral no Brasil. **Cad. Saúde Pública**, v. 26, n. 04. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/csp/a/CndmPwV4n3sCxx5DdrfwfbC/?lang=pt&format=pdf>>. Acesso em: 15 mar. 2022.

WERNECK, G. L.; *et al.*. 2014. *Effectiveness of insecticide spraying and culling of dogs on the incidence of Leishmania infantum infection in humans: a cluster randomized trial in Teresina, Brazil*. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, 30 out.. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0003172>>. Acesso em: 14 out. 2021.

WERNECK, G. L.. 2014. *Visceral leishmaniasis in Brazil: rationale and concerns related to reservoir control*. **Revista de Saúde Pública**, v. 48, n. 05. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rsp/a/PZkg8XHnTxMydBNHHNY5zfv/?lang=en>>. Acesso em: 12 fev. 2021.

WERNECK, G. L.. 2016. *The control of visceral leishmaniasis in Brazil: end of a cycle?*. **Cad. Saúde Pública**, v. 32, n. 16. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27333133/>>. Acesso em: 15 mar. 2022.

WHEELER, D. C.. 2007. *A comparison of spatial clustering and cluster detection techniques for childhood leukemia incidence in Ohio, 1996 – 2003*. **Int J Health Geogr.**, v. 13. Disponível em: <<https://ij-healthgeographics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1476-072X-6-13>>. Acesso em: 15 mar. 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2020. **Leishmaniosis**. Genebra, Suíça: WHO. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis#:~:text=Visceral%20leishmaniasis%20is%20the%20main,the%20lowest%20number%20on%20record>> Acesso em: 14 out. 2021.

ANEXOS**ANEXO A – APROVAÇÃO DA PESQUISA PELO COMITÊ DE ÉTICA****COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – UNILA**

O projeto intitulado "Bioprospecção de Imunobiológicos Destinados à Saúde Animal e Humana", processo de número 001/2018, sob responsabilidade do professor Kelvinson Fernandes Viana, está de acordo com as normas éticas estabelecidas pela Lei de Procedimentos para o Uso Científico de Animais (Lei Nº 11.794, de 8 de outubro de 2008), sendo portanto aprovado pela CEUA desta universidade, em reunião realizada em 19 de abril do corrente ano.

Foz do Iguaçu, 21 de abril de 2019

A handwritten signature in black ink, appearing to be "Flávio", is positioned above the printed name of the coordinator.

Prof. Dr. Flávio Luiz Tavares
Coordenador
Comissão de Ética no Uso de Animais - UNILA