Universidade de São Paulo

Faculdade de saúde Pública

Leishmaniose visceral canina nos municípios de Araçatuba e Birigui, estado de São Paulo, Brasil

Danielle Nunes Carneiro Castro Costa

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Epidemiologia

Orientador: Prof. Dr. Francisco Chiaravalloti Neto

Co-Orientador: Profa. Dra. Cláudia Torres Codeço

São Paulo

2018

Leishmaniose visceral canina nos municípios de Araçatuba e Birigui, estado de São Paulo, Brasil

Danielle Nunes Carneiro Castro Costa

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Epidemiologia

Orientador: Prof. Dr. Francisco Chiaravalloti Neto

Co-Orientador: Profa. Dra. Cláudia Torres Codeço

versão revisada

São Paulo

2018

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catalogação da Publicação
Ficha elaborada pelo Sistema de Geração Automática a partir de dados fornecidos pelo(a) autor(a)
Bibliotecária da FSP/USP: Maria do Carmo Alvarez - CRB-8/4359

Costa, Danielle Nunes Carneiro Castro
Leishmaniose visceral canina nos municípios de Araçatuba e Birigui, estado de São Paulo, Brasil / Danielle Nunes Carneiro Castro Costa; orientador Francisco Chiaravallote Neto; coorientadora Cláúdia Torres Codeço. -- São Paulo, 2018.
130 p.

Tese (Doutorado) -- Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, 2018.

1. Leishmaniose Visceral. 2. Análise espacial. 3. Inquérito sorológico. 4. Eutanásia canina. 5. Modelos dinâmicos. I. Chiaravallote Neto, Francisco, orient. II. Torres Codeço, Cláúdia , coorient. III. Título.

AGRADECIMETOS

- A Jesus Cristo por me conduzir e capacitar nessa jornada. Sem Ele nada do que foi feito seria possível. Obrigada Senhor e meu Pastor.
- Ao meu marido, Thiago Castro Costa, por me apoiar, me suprir e nos momentos mais tensos aturar minhas chatices, muitas vezes apresentando uma solução assertiva.
- À minha mãe, Elisabeth Nunes, por não me deixar desistir, por se dispor a me ajudar no que fosse necessário, desde ir a campo para coletar e digitar os dados até cuidar da neta enquanto eu terminava de escrever a tese.
- Ao meu orientador, Francisco Chiaravalloti Neto, que desde o início embarcou nas minhas ideias, clareando meus pensamentos e quando preciso me aconselhando a seguir por caminhos diferentes. Em nenhum momento me deixou sem orientação e sempre olhou para as dificuldades de forma positiva, acreditando no meu potencial.
- À minha co-orientadora, Cláudia Torres Codeço, com quem sempre pude contar, me orientando, dando conselhos e sendo exemplo de profissional, esposa e mãe.
- À Patrícia Marques Moralejo Bermudi, que começou essa jornada como aluna de iniciação científica e cresceu em maturidade, conhecimento e hoje desenvolve sua pesquisa de mestrado. Obrigada por me auxiliar e me ensinar a arte do geoprocessamento, me ajudando nas análises dos dados.
- À Caris Maroni Nunes por ser um porto seguro longe de casa, sempre prestativa e com palavras de incentivo. Suas alunas costumam chamar-lhe de segunda mãe, e mesmo não sendo sua aluna, fui tratada como uma filha. Muito obrigada!
- À Lilian Aparecida Colebrusco Rodas por nos ajudar a fomentar parcerias, acreditar no meu potencial e prontamente nos ajudar no que fosse preciso.
- Aos doutores Roberto Mitsuyoshi Hiramoto e José Eduardo Tolezano pelo incentivo, por cooperar com o processo de coleta de dados, nos disponibilizando os insumos, abrindo portas e estando sempre tão solícitos e presentes, compartilhando seus conhecimentos conosco.

- Aos veterinários dos Centros de Controle de Zoonoses (CCZ) dos municípios de Araçatuba, Rafael Silva Cipriano, e Birigui, Ricardo Antônio de Oliveira, por apoiar o projeto direcionando funcionários, permitindo o acesso aos dados, equipamentos e insumos, por me dar liberdade e autoridade para coordenar todo o processo da coleta de dados.

- À Graziela Cândido Diniz Cardoso, biomédica funcionária do CCZ – Araçatuba que se tornou uma amiga e conselheira, um verdadeiro presente de Deus.

- À Glaucia Candido Polizel inicialmente contratada para auxiliar na coleta de dados e se tornou uma amiga, parceira, me acolhendo como parte de sua família, me suprindo nas necessidades mais básicas.

- Aos funcionários dos CCZ que participaram ativamente das coletas de dados. Em especial a Célia Aparecida Rodrigues de Castro e a Mariza Vianne, funcionárias do município de Birigui, que com seu bom humor, carisma, dedicação ao trabalho fez da coleta de dados nesse município um SUCESSO, em tempo recorde!

- Aos veterinários Maria Fernanda Cereijido Bersani Fink e João Pedro Barbosa por me auxiliarem nas coletas de dados, coordenando as equipes e conduzindo os inquéritos sorológicos com muita responsabilidade e dedicação.

- Aos demais colaboradores que tornaram esse sonho possível.

- Agradeço a FAPESP/CAPES pelos apoios financeiros ao projeto através do processo nº 2014/177646 e a minha pessoa através da bolsa de auxílio regular processo nº 2014/065184, agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

RESUMO

Costa DNCC. **Leishmaniose visceral nos municípios de Araçatuba e Birigui, estado de São Paulo, Brasil** [Tese de doutorado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP; 2018.

Introdução: A premissa do programa nacional de controle da leishmaniose visceral (LV) é que a doença humana esteja relacionada com a canina, sendo o controle do reservatório canino um dos focos do programa. **Objetivos:** Mensurar a taxa de incidência da LV em humanos, relacionando-a com as coberturas do controle químico e do reservatório canino. Relacionar a soroprevalência canina com características dos cães e de seus tutores. E avaliar a eficácia da eutanásia de cães soropositivos no controle da infecção canina. **Métodos:** Os casos humanos e os domicílios com cães soropositivos registrados no período de 2007 a 2015 no município de Araçatuba, estado de São Paulo, foram geocodificados e calculadas a soroprevalência canina, a taxa de incidência humana e as coberturas das atividades de inquérito sorológico, eutanásia e controle químico. A associação entre as variáveis foi avaliada por comparação de mapas, por regressão linear e pela função K de Ripley. Um estudo transversal foi conduzido entre 2015 e 2016, nos municípios de Araçatuba e Birigui, tendo como base uma amostra da população canina. A soroprevalência foi modelada por regressão logística em uma abordagem geoestatística usando a aproximação de Laplace integrada aninhada para inferência bayesiana. Dados secundários e dos inquéritos realizados foram utilizados para elaborar e calibrar modelos dinâmicos. **Resultados:** Observou-se no município de Araçatuba a diminuição da taxa de incidência LV e da soroprevalência canina, apesar das coberturas de controle terem sido baixas no mesmo período estudado. O inquérito sorológico revelou uma soroprevalência canina de 8% em Araçatuba e 4% em Birigui. Em Araçatuba a ocorrência de cães soropositivos foi associada à domicílios que tiveram mais de 10 cães ao longo do tempo, domicílios com histórico de cães com a infecção ou que morreram por outras causas não naturais, e à permanência dos cães no peridomicílio ao longo do dia. Foi observada dependência espacial (46 m) entre as observações. Considerando controle contínuo e um esforço das atividades de inquérito sorológico três vezes maior que a média do observado em Araçatuba e duas vezes maior em Birigui, as atividades relacionadas à eutanásia de cães com diagnóstico positivos possibilitariam, em teoria, o controle da infecção canina. **Conclusões:** A diminuição da LV ao longo do tempo está relacionada com as ações de controle, uma vez que pequenas alterações na dinâmica da infecção canina têm

importância epidemiológica. O encontro de dependência espacial entre os domicílios com casos caninos em pequenas distâncias reforça a existência de um padrão local da transmissão da infecção entorno dos domicílios, relacionado com as características do vetor. A eutanásia de cães soropositivos, em teoria, é capaz de controlar a infecção canina, porém, este resultado desse ser entendido com cautela, dada a complexidade operacional desta medida e as questões éticas relacionadas. Novos estudos precisam ser desenvolvidos para uma melhor compreensão se fatores além das atividades de controle estariam envolvidos na diminuição da incidência da LV. Faz-se necessário planejamento a longo prazo das ações de controle e investimento em pesquisas sobre o custo-efetividade de outras medidas que auxiliem no controle da LV.

Palavras-chave: Leishmaniose visceral; Análise espacial; Eutanásia canina e Modelos Dinâmicos.

ABSTRACT

Costa DNCC. **Visceral leishmaniasis in the municipalities of Araçatuba and Birigui, state of São Paulo, Brazil** [thesis]. São Paulo (BR): Faculty of Public Health of University of São Paulo; 2018.

Background: The assumption of visceral leishmaniasis (VL) control program is that human disease (HVL) is related to canine infection (CanL), and that supports the culling of infected dogs. **Objectives**: Estimate the coverage of visceral leishmaniasis (VL) control measures and to relate them to the occurrence of HVL in an endemic urban area (Araçatuba, SP). Determine the CanL seroprevalence and to evaluate its relationship with the characteristics of dogs and their owners. Evaluated the culling dogs efficacy in controlling the canine infection. in the municipalities of Araçatuba and Birigui, state of São Paulo, Brazil. **Methods**: The cases of HVL and households with seropositive dogs registered in the period from 2007 to 2015 were geocoded the coverage of the serological inquiry, culling dogs and chemical spaying, canine seroprevalence and HVL incidence rates were calculated. The relationship between CanL, HVL and control measures was evaluated by map comparison, by linear regression and was also assessed using the Ripley K function. A cross-sectional study was conducted between 2015 and 2016, based on a sample of the canine population. Seroprevalence was modelled by logistic regression in a geostatistical approach using the integrated nested Laplace approximation for Bayesian inference. The spatial component was modelled by a Gaussian field, using a stochastic partial differential equation approach. Secondary data and the surveys were used to elaborate and calibrate dynamic models of canine disease transmission. **Results**: Verified the decrease of HVL and the CanL in Araçatuba over time, even in low coverage of control measures. The CanL seroprevalence was 8% in Araçatuba and 4% in Birigui. The occurrence of a seropositive dog in Araçatuba was associated with the presence of more than 10 dogs living in the same house, house with dogs that previously died of VL or died of other unnatural causes, and the place of dogs stayed during the day. Spatial dependence among observations occurred within about 46 m. Considering a continuous control and a serological survey effort three times higher than the average of the observed in Araçatuba and twice as high in Birigui, the activities related to culling dogs is effective in controlling canine infection. **Conclusions**: The observation of VL decrease over time may be related to control measures. The short-distance spatial dependence could be related to the vector characteristics, producing a local neighbourhood VL

transmission pattern. The culling dogs were effective in controlling the disease in the dogs' population. However, this result should be understood with caution given the operational complexity of this measure and related ethical issues. New studies need to be developed for a better understanding if factors other than control activities would be involved in reducing the incidence of VL. It is necessary in addition to long-term planning of the control actions carried out by the program, investment in researches that evaluate the cost-effectiveness of other measures that may help in the control of VL.

Keyword: Visceral leishmaniasis, Spacial analysis, Culling dogs and Dynamic models.

SUMÁRIO

Introdução 15
1.1 Leishmaniose visceral 15
1.2 Desafios no controle da leishmaniose viceral 16
1.3 Fatores associados ao risco de infecção em cães 19
Objetivos 21
Materiais e métodos 22
3.1 Metodologia para atender o objetivo I 22
3.1.1 Tipo, área de estudo, população e período 22
3.1.2 Unidade de análise 23
3.1.3 Coleta de dados 23
3.1.4 Análises 23
3.1.4.1 Geocodificação 24
3.1.4.2 Modelo estatístico 24
3.2 Metodologia para atender o objetivo II 25
3.2.1 Tipo, área de estudo, população e período 25
3.2.2 Amostragem 26
3.2.3 Coleta de dados 26
3.2.4 Análises 27
3.2.4.1 Variáveis 27
3.2.4.2 Análise exploratória 28
3.2.4.3 Modelo estatístico 29
3.3 Metodologia para atender o objetivo III 30
3.3.1 Tipo, área de estudo, população e período 30
3.3.2 Coleta de dados 30
3.3.2.1 Dados secundários 30
3.3.2.2 Dados primários 31

3.3.3 Modelo dinâmico 31
3.3.3.1 Premissas dos modelos 31
3.3.3.2 Equações dos modelos 32
3.3.3.2.1 Modelo original 33
3.3.3.2.2 Modelo com vetor 36
3.3.4 Análises 38
3.3.4.1 Cenários de controle 38
3.3.4.2 Cálculo do R0 40
3.4 Questões éticas 40
Resultado e discussão 41
4.1 Resultado referente ao objetivo I 41
4.2 Resultado referente ao objetivo II 58
4.3 Resultado referente ao objetivo III 85
Conclusões 106
Referências 108
Anexo I: Questionário sobre hábitos e mobilidade do cão 119
Anexo II: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido 122
Anexo III: Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública. 124
Anexo IV: Aprovação do CEUA – Faculdade de Medicina Veterinária Unesp/Araçatuba 125
Anexo V: Comprovante de aceite de manuscrito pela Revista de Saúde Pública 126
Anexo VI: Comprovante de aceite de manuscrito pela BMC Veterinary Research 127
Anexo VII: Currículo Lattes Danielle N C C Costa 128
Anexo VIII: Currículo Lattes Francisco Chiaravalloti Neto 129

LISTAS DE QUADROS

Quadro 1 - Variáveis coletadas por inquérito sorológico para leishmaniose visceral canina realizada em Araçatuba/SP - Brasil, 2015-2016.....27

Quadro 2 – Parâmetros e símbolos utilizados no modelo original.....35

Quadro 3 – Parâmetros e símbolos utilizados no modelo com vetor. 36

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1 – Área de estudo 22
Figura 2 – Fluxo de indivíduos no modelo dinâmico 33

SIGLAS UTILIZADAS

LV – Leishmaniose Visceral

LVC – Leishmaniose Visceral Canina

LVH – Leishmaniose Visceral Humana

CVE - Centro de Vigilância Epidemiológica

PNVCLV – Programa Nacional de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral

MS – Ministério da Saúde

CCZ – Centro de Controle de Zoonoses

SUCEN – Superintendência de Controle de Endemias

SINAN – Sistema de Informação de Agravos de Notificação

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

AIC – "Akaike's Information Criterion" (Critério de informação Akaike)

DPP – TR-DPP®-Bio-Manguinhos (Teste sorológico de triagem para o diagnóstico da infecção canina)

SES – Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo

ELISA – Ensaio imunoenzimático (Teste sorológico confirmatório para o diagnóstico da infecção canina)

VIF – "Variance Inflation Factor" (Fator de inflação de variância)

GF – "Latent Stationary Gaussian field" (Campo Gaussiano estacionário latente)

SPDE – "Stochastic Partial Differential Equation" (Equação diferencial parcial estocástica)

GMRF – "Gaussian Markov Random Field" (Campo aleatório Gaussian Markov)

INLA – "Integrated Laplace Approximation" (Aproximação de Laplace Aninhada Integrada)

DIC – “Deviance Information Criterion” (Critério de informação de desvio)

IC – Intervalo de Confiança

INTRODUÇÃO

1.1 LEISHMANIOSE VISCERAL

A leishmaniose visceral (LV) é uma doença tropical negligenciada, caracterizada como doença de determinação multicausal, considerada um grave problema de saúde pública e está listada entre as seis endemias prioritárias em todo o mundo, apesar de apenas seis países concentrarem 90% dos casos. Considerando a América Latina, o Brasil lidera com mais de 90% de casos relatados, apresentando aspectos geográficos, climáticos e sociais diferenciados, dependendo da região (BRASIL, 2014; ZUBEN & DONALÍSIO, 2016; WHO, 2018).

Historicamente a LV é uma doença essencialmente rural, mas a partir da década de 1980 observa-se a expansão para áreas urbanas, onde a transmissão ocorre de forma heterogênea, apresentando maior ou menor semelhança com o padrão epidemiológico rural. Até a década de 90, a grande maioria dos casos notificados (90%) ocorria na região Nordeste. Com a adaptação do vetor a ambientes urbanos, a dispersão da LV atingiu toda a extensão do território brasileiro, envolvendo as regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e atualmente há registro do vetor e de casos caninos no extremo sul do país (BRASIL, 2014; TELES et al., 2015; BIANCHI et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2016; RODRIGUES et al., 2017). Esta expansão está relacionada, entre outros fatores, com os processos de urbanização desordenada, resultando em condições precárias de saneamento; com obras de construção civil, como rodovias e ferrovias e processos migratórios, que facilitam o deslocamento não só de humanos mais também de animais infectados; e principalmente, com a adaptação do vetor a novos ambientes, além de outros fatores antrópicos (CARDIM et al., 2016).

O agente etiológico da LV, no Brasil, é *Leishmania* (*Leishmania*) *infantum chagasi* e a principal espécie transmissora é *Lutzomyia longipalpis* (LUTZ & NEIVA, 1912), porém *Lutzomyia cruzi* também tem sido associado ao ciclo de transmissão (DE OLIVEIRA et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2017). A transmissão da infecção se dá quando a fêmea de um flebotomíneo infectado, ao realizar o repasto sanguíneo, inocula na pele do hospedeiro o agente etiológico. No ambiente urbano, o cão (*Canis familiaris*) é considerado o reservatório mais importante na transmissão da leishmaniose, devido à proximidade com os seres humanos e ao intenso parasitismo cutâneo, além da capacidade de infectarem flebotomíneos (NUNES et al., 2010). A participação dos cães no ciclo epidemiológico da leishmaniose foi inicialmente sugerida por NICOLLE & COMTE (1908), mas a confirmação da infecção

canina foi realizada por Aristides Marques da Cunha e Evandro Chagas em 1937 (MENDONÇA, 2010).

Estudos epidemiológicos têm verificado, em áreas urbanas, sobreposição entre locais com incidência de casos humanos e elevada soroprevalência canina (TEIXEIRA-NETO et al., 2014; TELES et al., 2015; URSINE et al., 2016; CAMPOS et al., 2017). De acordo com ROSALES & YANG (2006), essa relação entre a doença humana e a infecção canina é tão estreita que casos humanos são observados após dois anos de níveis de soroprevalência canina maiores de 20%. E um estudo em área rural, observou que a proximidade com cão soropositivo aumenta em cinco vezes a chance de infecção humana (FAYE et al., 2011).

No estado de São Paulo, Araçatuba e Birigui foram os primeiros municípios a confirmarem casos autóctones da leishmaniose visceral humana (LVH) em 1999, um ano após a ocorrência de casos caninos (CASANOVA et al 2015; CVE - dados não publicados). Desde então, esses municípios tornaram-se regiões endêmicas para a doença. De 1997 a 2014, a dispersão do vetor pelo estado de São Paulo alcançou 167 municípios com casos caninos e humanos relatados respectivamente em 108 e 84, seguindo o sentido do noroeste a sudeste marginando a rodovia Marechal Rondon (OLIVEIRA AM et al., 2016; CARDIM et al 2016).

1.2 DESAFIOS NO CONTROLE DA LEISHMANIOSE VICERAL

O Programa Nacional de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (PNVCLV) foi estruturado a partir da “Campanha contra a leishmaniose visceral” em 1958 como consequência do primeiro surto de LV registrado na zona urbana de Sobral, no Ceará, em 1953 (RODRIGUES et al. 2017). E a base teórica que dá sustentação às ações do PNVCLV é a premissa de que a incidência da infecção humana está diretamente relacionada ao número de cães infectantes e à capacidade da população de flebotomíneos de transmitir infecção do cão para o homem. Por este motivo, o PNVCLV está centrado no diagnóstico e tratamento precoce dos casos humanos, redução da população de flebotomíneos, controle do reservatório canino e atividades de educação em saúde. A eutanásia de cães soropositivos é uma estratégia que envolve questões éticas, de direito dos animais, operacionais e de custo. Como alternativa tem se pesquisado novas estratégias de controle do reservatório canino, como o uso de coleiras impregnadas com deltametrina, vacinação e tratamento dos infectados (MIRÓ, et al., 2017). Atualmente o Ministério da Saúde (MS) aceita a vacinação de cães contra LV e o tratamento de cães soropositivos como ações de controle individual, uma vez que ainda não

foi comprovada a efetividade dessas ações como medidas de controle a nível de saúde pública, por isso não fazem parte do programa de controle liderado pelas autoridades sanitárias (BRASIL, 2016). Estudos recentes têm verificado a efetividade do uso de coleiras impregnadas com deltametrina no controle da infecção canina (Kazimoto et al., 2018; Silva et al., 2018). Espera-se que a associação das estratégias do uso de coleiras impregnadas com inseticida com a eutanásia de cães positivos seja mais efetiva no controle da doença tanto em cães como em humanos (Leite et al., 2018).

A maioria dos fatores associados à aquisição da infecção estão relacionados à exposição ao vetor, uma vez que a transmissão ocorre através de picadas de flebotomíneos infectados. Fatores como a ocupação urbana desordenada, destruição ambiental, saneamento deficiente, condições de habitação, presença de galinheiros e proximidade a locais de vegetação mais densos proporcionam maiores chances de picadas efetivas, garantindo assim o ciclo de transmissão da infecção (BELO et al., 2013b; ALVAR et al., 2006; FIGUEIREDO et al., 2017). O controle químico é, na teoria, uma estratégia efetiva contra infecções transmitidas por vetores, porém as dificuldades no controle vão além da adaptabilidade do vetor a ambientes urbanos e a diferentes temperaturas, o que contribui para a sua dispersão a áreas livres da infecção. Na prática do PNVCLV a efetividade do controle vetorial é comprometida por questões relacionadas com operacionalização e manutenção desta medida, como a elevada recusa à aplicação do inseticida no intra e peridomicílio e principalmente, à falta de recursos materiais e humanos. Outro fator limitante é o curto efeito residual dos inseticidas piretróides sendo necessária sua reaplicação. Além da complexidade operacional e custo-efetividade dessa medida, outro ponto que dificulta o controle vetorial segundo ROSALES & YANG (2006) é que a transmissão da infecção ocorre ainda que a concentração da população vetorial seja baixa, ou seja, poucos flebotomíneos infectantes são capazes de manter o ciclo da infecção (WERNECK, 2014; SALOMÓN et al., 2015; MORAIS et al., 2015; ZUBEN & DONALÍSIO, 2016; ROMERO, 2016).

Quanto ao controle do reservatório canino, há dúvidas sobre a capacidade dos testes diagnósticos e da eutanásia como medida de controle (COURTENAY et al. 2002; COSTA, 2010; WERNECK, 2014; SALOMÓN et al, 2015; SEVÁ et al, 2016). As falhas na estratégia de controle da infecção canina, podem ser atribuídas ao conhecimento ainda insuficiente sobre os vários elementos que compõem a cadeia de transmissão. Além das questões relacionadas à dinâmica de transmissão, os desafios do PNVCLV envolvem dificuldades operacionais como: descentralização das ações de controle de endemias sem garantia de existência de

infraestrutura local para desenvolvimento de tais ações; descontinuidade do desenvolvimento das ações de controle, ocorrido por diversas razões, como escassez de recursos, em especial durante epidemias de Dengue, visto que o controle da LV em geral utiliza os mesmos recursos humanos e financeiros que são administrados para o controle de outros agravos vigentes no município; e pela complexidade de operacionalização nas etapas da ações dessa medida (ZUBEN & DONALÍSIO, 2016; WERNECK, 2016). Outros desafios encontrados na rotina do PNVCLV podem ser descritos como a dificuldade de se percorrer toda a área em risco, seja por falta de recursos humanos e financeiros, ou devido à violência urbana; o não encontro e/ou a recusa, pelo tutor, na participação do cão no inquérito sorológico; a dificuldade operacional em executar milhares de testes diagnósticos; a demora entre o diagnóstico e remoção do cão soropositivo, que permanece participando da dinâmica de transmissão até que seja eutanasiado; as negativas quanto à entrega desses cães infectados, uma vez que, no Brasil, a coleta de sangue para o diagnóstico e a eutanásia de cães positivos é uma escolha do tutor assegurada por lei; e a reposição, muitas vezes ao mesmo ambiente propício a manutenção da infecção, de cães após a eutanásia dos soropositivos estimada em 38%, dos quais 15% já apresentariam a infecção no momento de sua adoção por parte dos tutores (NUNES et al., 2008; DANTAS-TORRES & BRANDÃO-FILHO 2006, ZUBEN & DONALÍSIO, 2016; ROMERO, 2016; WERNECK 2016; SILVA et al., 2017).

Apesar do imenso desafio, existem estudos que sugerem a efetividade da eutanásia de cães soropositivos como estratégia de controle da LV (COSTA et al., 2007; SOUZA et al., 2008; OLIVEIRA, 2011; MORAIS, 2011; COSTA et al. 2013). Um exemplo é o estudo de NUNES et al., 2010, que considerando o tempo de dois anos para o aparecimento de casos humanos, observaram, no município de Araçatuba, uma correlação entre a diminuição da incidência de casos humanos e as atividades de controle do reservatório canino. COSTA et al. (2013), utilizando modelos matemáticos, concluíram que a eutanásia canino como estratégia de controle se mostra eficaz, ainda que em baixas coberturas de controle, quando eutanasiados todos os cães infectantes em um programa de controle implementado de forma contínua. O PNVCLV tem sido aprimorado, com o direcionamento das estratégias de controle de acordo com os níveis de transmissão e a priorização da redução da letalidade em humanos (WERNECK, 2016). Os autores WERNECK (2016), ROMERO (2016) e LUZ (20116) apontam para a necessidade de pesquisas científicas de qualidade que avaliem o custo-efetividade de implementação de novas ferramentas de controle, e sugerem que as mudanças no PNVCLV devem ser mais abrangentes e irem além da discussão sobre o controle vetorial e

do reservatório canino, e que envolvam uma maior participação da sociedade nas ações de controle, investimentos em saneamento ambiental e em melhoria no cuidado ao paciente a partir do fortalecimento do Sistema Único de Saúde.

1.3 FATORES ASSOCIADOS AO RISCO DE INFECÇÃO EM CÃES

Os riscos para a infecção em cães e desenvolvimento de sintomas tem sido relacionado a uma gama de fatores que vão desde a susceptibilidade genética, estado nutricional, imunológico e questões relacionadas ao meio (SOLANO-GALLEGO et al., 2009). A infecção não é determinada pelo sexo, idade, raça, tamanho do pelo ou porte do animal, porém essas características influenciam no grau de exposição de cães ao vetor, e a importância desses fatores varia dependendo da região, estrutura populacional e da metodologia empregada na avaliação (BELO et al., 2013a; BRASIL, 2014). Cães machos, de raças de porte médio e grandes, por serem comumente utilizados como cães de guarda, mantidos parte ou todo tempo no peridomicílio, como quintais e adjacências, estão mais expostos a picadas de flebotomíneos, e por isso podem ter o risco de infecção aumentado (FRANÇA-SILVA et al., 2003; AMORA et al., 2006; COURA-VITAL et. al., 2011; QUILEZ et al., 2012). Outro fator a ser considerado é o tamanho do pelo, cães com pelo curto seriam mais expostos a picadas do vetor por terem maior superfície de contato e por produzirem mais CO^2, atraindo mais os vetores que cães de pelo longo (PENAFORTE et al., 2013).

Em relação à idade, cães com mais de 2 anos têm sido associados com maior risco de infecção, supondo que a exposição desses cães seria maior, tanto pelo tempo de exposição ao longo da vida, quanto por serem mais frequentemente criados fora dos domicílios. Outra hipótese apontada, seria o longo período de latência da infecção, pois esses cães poderiam ter adquirido a infecção enquanto filhotes e só apresentarem positividade aos testes diagnosticados quando adultos (BELO, 2013a e b; MARCONDES & ROSSI, 2013; LOPES et al., 2014). Entretanto, LOPES et al. (2016) verificaram na região metropolitana do município de Belo Horizonte/MG que ter mais de 4 anos seria um fator de proteção contra a infecção, segundo os autores o aumento de imunidade poderia ser uma explicação para este achado. A quantidade de animais no domicílio também tem sido associada à infecção, pois pode estar relacionada com a falta de cuidados gerais com o cão, o que poderia ser uma indicação de comportamento propício para o desenvolvimento das condições que atrairiam o vetor possibilitando a transmissão da infecção (AMORA et al., 2006; BELO et al., 2013a; ABRANTES et al., 2018). A permanência de condições básicas favoráveis à transmissão,

mesmo após a detecção por autoridades sanitárias de cães soropositivos, contribui para a infecção em novos cães no domicílio (NUNES et al., 2010). DA SILVA et al. (2012) verificaram que domicílios com histórico de pelo menos um cão soropositivo, recolhido pelo programa de controle, tiveram maior chance de ter cão doente do que residências sem antecedentes de remoção.

Apesar da presença de galinheiros nos domicílios atrair flebotomíneos, que procuram abrigar-se em locais úmidos, com presença de matéria orgânica em decomposição, não há consenso sobre esse ser um fator de risco para LV (MISSAWA et. al., 2008; BELO et. al., 2013a; MARCONDES & ROSSI, 2013). Outros potenciais criadouros de flebotomíneos são encontrados em habitações inadequadas, aglomerado populacional, presença de animais domésticos agregado à ausência de estrutura sanitária, condições essas que são decorrentes do processo de urbanização desordenado, presente, principalmente nas periferias das cidades brasileiras. Apesar de não haver dúvida de que ambientes onde as condições socioeconômicas da população são precárias, havendo a permanência de fatores propícios para a dinâmica de transmissão da infecção, segundo BELO (2013a) os dados sobre essa associação não são tão claros na literatura.

Nesse contexto, o uso de sistemas de informação geográfica e de análise espacial podem auxiliar na compreensão da dinâmica de transmissão da infecção. Vários autores têm apontado sua importância na identificação de áreas prioritárias e avaliação da efetividade de medidas de vigilância e controle (VIEIRA et al., 2014, TEIXEIRA-NETO et al., 2014, URSINE et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2016; CARDIM et al 2016; CAMPOS et al., 2017). Da mesma forma, a modelagem matemática tem sido aplicada aos estudos das leishmanioses visando representar a forma como a infecção se espalha numa população, permitindo a avaliação e/ou criação, ainda que de forma teórica, de instrumentos que possam, essencialmente, auxiliar nas ações de prevenção e/ou controle da dispersão da doença em foco (COSTA et al. 2012; SEVÁ et al, 2016; SHIMOZAKO et al., 2017a; SHIMOZAKO et al., 2017b; HUSSAINI et al., 2017). Nesse sentido, este projeto pretende ampliar a compreensão da dinâmica de transmissão da infecção e contribuir assim para uma melhor elaboração e/ou direcionamento de medidas de prevenção e controle em nível de saúde Pública, por meio da identificação de áreas prioritárias, da avaliação das coberturas das estratégias de controle químico e do reservatório canino, da observação de fatores associados à infecção canina e da verificação da efetividade da eutanásia como medidas de controle.

OBJETIVOS

I – Mensurar, no espaço e no tempo, as incidências de casos humanos de LV em Araçatuba e analisar a associação com às coberturas das atividades do controle químico e do reservatório canino.

II – Verificar a soroprevalência da infecção canina na região de maior incidência da doença humana no município de Araçatuba e analisar a associação com as características dos cães e de seus tutores.

III – Adaptar o modelo teórico da dinâmica de transmissão da infecção canina da LV obtido por COSTA et al. (2013) para a realidade epidemiológica da transmissão da infecção canina nos municípios de Araçatuba e Birigui.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido nos municípios de Araçatuba (21º11'50 "Sul, 50º25'52" Oeste) com população estimada em 194,874 habitantes (IBGE, 2018a) e Birigui (21º11'49 "Sul, 50º21'10" Oeste) com 120,692 habitantes (IBGE, 2018b). Essas são as duas das principais cidades da região administrativa de Araçatuba, localizados na região noroeste do estado de São Paulo (Figura 1). A região tem temperatura média anual de 23 ° C e precipitação acumulada anual de 1229,5 mm. Araçatuba e Birigui têm respectivamente 52km^2 e 46 Km^2 de área urbana e desde 1999 são consideradas áreas endêmicas para LV, pois têm apresentado médias anuais de casos humanos maiores ou iguais a 4,4 (BRASIL, 2016). Estes são municípios de grande importância epidemiológica para o estado pois foram os primeiros a registrarem, o vetor, os casos caninos e humanos, sendo desde então regiões endêmicas (CASANOVA et al 2015; CVE - dados não publicados).

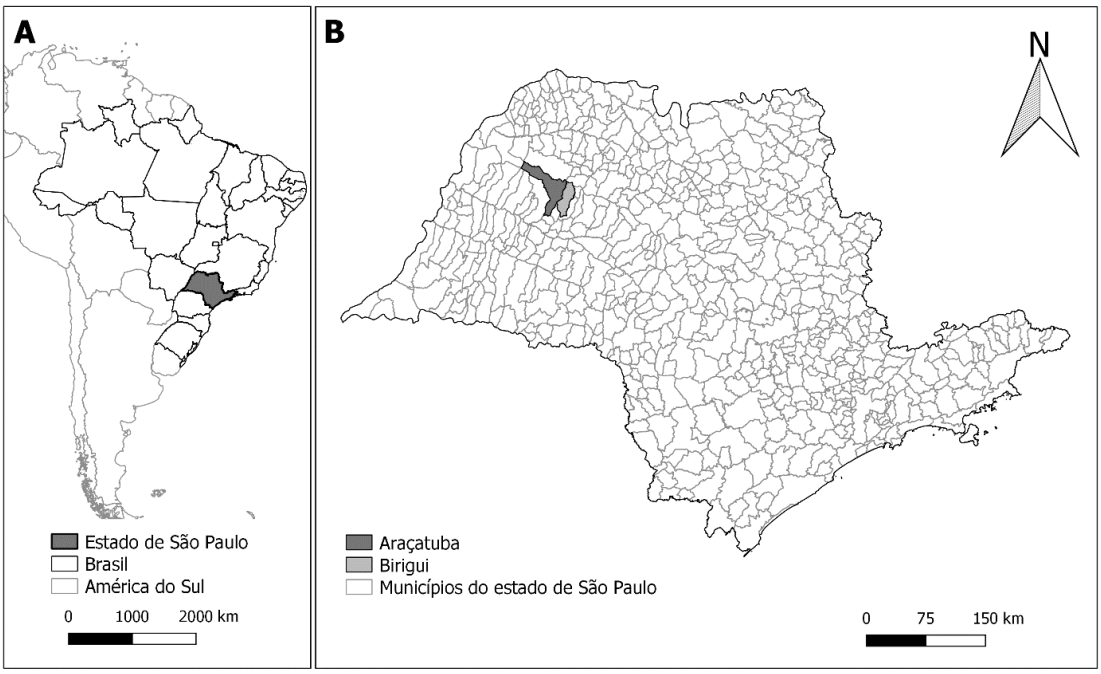


Figura 1 – Área de estudo

3.1 METODOLOGIA PARA ATENDER O OBJETIVO I

3.1.1 Tipo, Área de Estudo, População e Período

Estudo ecológico no município de Araçatuba, no qual foram considerados como população de estudo os casos de LVH e os cães avaliados por inquéritos sorológicos realizados pelo Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) no período de 2007 a 2015.

3.1.2 Unidade de Análise

Foram estabelecidas como unidades de análises tanto a zona urbana do município como um todo, como os setores delimitados e utilizados pelo município e pela Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN) para a realização das atividades de vigilância e controle, definidos como “setores SUCEN”.

3.1.3 Coleta de Dados

Dentre as ações de vigilância e controle da LV foram considerados, neste estudo, o controle químico em imóveis no entorno de casos autóctones de LVH para eliminação do vetor (borrifação de inseticida no intra e peridomicílio) e a identificação de cães positivos por meio de testes sorológicos e eutanásia dos mesmos (controle do reservatório canino). Estas informações são registradas em boletins de campo que foram disponibilizadas pelo CCZ e incluídas em planilhas Excel. As informações sobre os casos de LVH (data de início de sintomas, idade e endereço de residência), foram obtidas com base em informações registradas no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) fornecidas pela Secretaria Municipal de Saúde de Araçatuba.

3.1.4 Análises

As recomendações contidas no Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral do MS e do estado de São Paulo foram utilizadas como referências para a avaliação das coberturas das ações de controle estudadas (Controle químico e do reservatório canino). A cobertura das atividades de borrifação de inseticida foi calculada pela razão entre o número de imóveis que foram borrifados e o de imóveis que foram programados para este fim, ou seja, a razão do realizado pelo programado. Para o cálculo dos imóveis que deveriam ser borrifados em um determinado ano, considerou-se uma área de no mínimo 200 metros de raio em torno do local dos casos registrados de LVH nos dois anos anteriores, como recomendado nos manuais de controle.

A realização anual de inquérito sorológico canino censitário era prevista, até o ano de 2016, em municípios com transmissão intensa da infecção (BRASIL, 2014). Por Araçatuba estar nessa classificação de risco, para cada ano estudado a cobertura do inquérito sorológico foi calculada pela divisão entre o número de cães avaliados pelo CCZ e o número de cães existentes, tomando-se como base a proporção de um cão para cinco pessoas, como estimado por NUNES (1997). O cão foi considerado soropositivo caso tenha apresentado resultado positivo em ambos os testes diagnósticos utilizados (um de triagem e outro confirmatório). A

soroprevalência, foi calculada a partir da divisão do número de cães soropositivos pelo de cães avaliados no mesmo período. Quanto à atividade de eutanásia, sua cobertura foi calculada a partir da divisão do número de cães eutanasiados pelo de cães soropositivos.

Com bases nas informações sobre os casos de LVH (data de início de sintomas, idade e endereço de residência), obtidas no SINAN, foram calculadas as taxas de incidência (por área e período) e apresentadas por faixas etárias de 0-19 anos, 20-59 anos e 60 anos e mais e por fim foi calculado o percentual de diminuição da taxa de incidência entre os períodos de 2007 a 2009 e 2010 a 2015.

3.1.4.1 Geocodificação

Os casos de LVH foram geocodificados pelo endereço de residência dos pacientes e os cães avaliados no inquérito pelo endereço de residências dos respectivos tutores. Antes da geocodificação foi necessário a padronização dos endereços dos dados no formato dos endereços constantes no mapa de arruamento de Araçatuba a fim de identificar os logradouros através do programa TerraView (INPE 2017). As coberturas de borrifação de inseticida, inquérito sorológico e eutanásia, as soroprevalências caninas e as taxas de incidência de LVH foram calculadas, por ano e agrupamentos de anos, segundo os “setores SUCEN” para toda área urbana do município, sendo apresentadas em tabelas e mapas, estes elaborados no programa QGIS versão 2.16.2.11.

Os “setores SUCEN” foram constituídos por dois ou mais setores censitários, elaborados digitalmente, utilizando-se a operação dissolver (para áreas coincidentes) e ferramenta de nós (para áreas não coincidentes) do programa QGIS. Para isso, foi utilizado um mapa físico de Araçatuba, fornecido pelo município, contendo as delimitações destes setores e dos setores censitários, e um mapa digital dos setores censitários, obtido do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Além da construção do mapa digital, todas as informações de população que estavam segregadas em setores censitários foram dissolvidas segundo os “setores SUCEN”.

3.1.4.2 Modelo Estatístico

Previamente à modelagem, foi realizada uma análise exploratória dos dados (ZUUR et al. 2010). Para as modelagens das regressões lineares múltiplas, o método adotado para escolha dos modelos mais apropriados foi o baseado na razão de verossimilhança, considerando o critério de melhor ajuste, os modelos que apresentaram menores “Akaike's Information

Criterion" (AIC). Estas análises foram rodadas no programa R versão 3.2.3 (R CORE TEAM, 2017).

A associação entre a doença humana e a infecção canina e as medidas de controle foi avaliada inicialmente com base na comparação dos respectivos mapas obtidos para cada ano do período de estudo. Esta avaliação também foi realizada com a utilização de modelos de regressão linear. Para esta análise, tomando-se como base o comportamento temporal da taxa de incidência, o período de estudo foi dividido em dois subperíodos (2007 a 2009 e 2010 a 2015) e foi gerado um modelo para cada subperíodo. Para a modelagem, definimos como variável dependente a taxa de incidência e como independentes as coberturas de borrifação de inseticida, do inquérito sorológico, de eutanásia e as soroprevalências caninas.

Posteriormente, com o intuito de avaliar a existência de associação no espaço entre a ocorrência da doença no ser humano e a infecção no cão, foram feitas análises bivariadas por meio da função K de Ripley (para os dois subperíodos) (RIPLEY, 1981). Trata-se de uma técnica de análise de pontos e que avaliou a hipótese da existência de dependência espacial entre as distribuições pontuais dos casos humanos e caninos.

3.2 METODOLOGIA PARA ATENDER O OBJETIVO II

3.2.1 Tipo, Área de Estudo, População e Período

Estudo transversal realizado na área com maior incidência da doença humana do município de Araçatuba, definida a partir resultados do objetivo I desse trabalho. Na seleção da área de estudo também foi considerado o primeiro censo sorológico canino desenvolvido em Araçatuba em 1999, após a identificação dos primeiros casos autóctones LV. Assim, a área de estudo também é parte da região que foi identificada com as mais elevadas soroprevalências neste primeiro censo sorológico (CAMARGO-NEVES et al 2001). Como população de estudo foram considerados os cães residentes nos domicílios abordados a partir de um inquérito sorológico canino, realizado no período de setembro de 2015 a abril de 2016, juntamente com os agentes de endemias do CCZ. Na área de estudo haviam 878 quadras, 24.750 domicílios e 41.012 habitantes, de acordo com dados da SUCEN. Foi utilizada a proporção de 1 cão para 5 habitantes estimado por NUNES (1997) para Araçatuba para calcular a população de cães do estudo como 8.200 indivíduos, com uma média de 9,3 cães por quadra.

3.2.2 Amostragem

Foi obtido um tamanho de amostra de 1800 cães para estimar a soroprevalência da infecção canina. Para isso, foi considerado um nível de significância de 5%, uma seroprevalência esperada de 5% e uma precisão de 1%. Este tamanho de amostra foi aumentado para 2300 cães em função de uma expectativa de 20% de casas fechadas e recusas durante as visitas. Foram selecionadas aleatoriamente 250 quadras daquelas na área de estudo para obter esse tamanho de amostra. Todos os domicílios nas quadras selecionados foram visitados para identificar aqueles com presença de cães. Em cada um, o contato foi feito com os tutores dos cães para explicar os objetivos da pesquisa e a apresentação do formulário de consentimento informado (Anexo II). Nós incluímos um domicílio e seus cães na pesquisa após o acordo de tutores e assinando o termo de consentimento informado.

3.2.3 Coleta de Dados

A pesquisa foi desenvolvida em colaboração com o CCZ. Foram criadas duas equipes de pesquisa, cada uma composta por agentes de endemias do CCZ, um entrevistador e um veterinário, contratados com fundos do projeto de pesquisa. Antes do início do trabalho, os membros da equipe foram treinados para abordar os tutores, preencher o questionário, realizar o exame clínico e coletar sangue dos cães. O desenvolvimento desta pesquisa em conjunto com CCZ permitiu o desencadeamento de medidas de controle resultantes da identificação de cães soropositivos para LV.

Após a inclusão na pesquisa do domicílio e de todos os cães residentes, foi atribuído um número de identificação a cada cachorro (DOG.ID). Um questionário sobre o endereço da residência, questões relacionadas às características e hábitos dos cães e características de seus tutores e domicílios foi respondido pelos tutores para cada cão residente no domicílio (Anexo I). O questionário também incluiu informações sobre os exames clínicos do cão, avaliados pelo veterinário no momento da coleta de sangue. O estudo de meta-análise de BELO et al (2013a) foi utilizado para compor o questionário sobre as características dos cães e seus tutores.

Uma amostra contendo 3 ml de sangue foi coletada de cada cão registrado com uma seringa descartável, evitando a hemólise, obtida por punção da veia cefálica, safena ou jugular. O sangue foi cuidadosamente transferido para um tubo de vidro de vácuo, no qual o número de identificação do cão foi previamente anotado. Foi mantido à temperatura ambiente até o coágulo ser retraído e armazenado em recipiente de isopor contendo gelo. As amostras

de sangue foram levadas para a CCZ, onde foram examinadas usando o teste TR-DPP®-Bio-Manguinhos (DPP). Este teste é utilizado pelo Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo (SES) como um teste de triagem para a soropositividade da infecção canina (BRASIL, 2016; SES, 2006). Amostras com resultados positivos neste primeiro teste foram enviadas ao Instituto Adolfo Lutz de Araçatuba para confirmar o diagnóstico positivo através de ensaio imunoenzimático (ELISA), conforme recomendado pela SES (BRASIL, 2016; SES, 2006).

Os resultados dos dois testes foram registrados para cada cão em seu respectivo questionário, com base em seu número de identificação. O CCZ usou o resultado dos testes diagnósticos para definir os procedimentos a serem adotados conforme o programa de controle do reservatório canino.

3.2.4 Análises

As informações fornecidas nos questionários foram inseridas em uma planilha do Excel, de modo que cada cão pertencente à amostra correspondesse a uma linha da planilha. Os endereços das residências foram padronizados e geocodificados com base no mapa de ruas de Araçatuba através do programa TerraView (INPE 2017). Uma vez que os endereços foram geocodificados, para cada cão, suas respectivas coordenadas geográficas foram obtidas na UTM Zone 22S e Datum SIRGAS 2000.

3.2.4.1 Variáveis

A soropositividade canina para LV (POS) foi a variável dependente do estudo (Quadro 1). O cão que apresentou resultado positivo em ambos os testes de diagnóstico foi considerado soropositivo (BRASIL, 2016; SES, 2006) e soronegativo o cão que apresentou resultado negativo no teste de triagem. As variáveis independentes (covariáveis) consideradas no estudo, bem como sua natureza e suas categorias, quando qualitativas, são apresentadas na Quadro 1.

Quadro 1 - Variáveis coletadas por inquérito sorológico para leishmaniose visceral canina realizada em Araçatuba/SP - Brasil, 2015-2016.

Abreviações	Significados	Caracterização da variável ou categorias
DOG.ID	Número de identificação	Alfanumérico
Diagnóstico		
DPP	Teste de triagem	0: negativo; 1: positivo
ELISA	Teste confirmatório	0: não se aplica; 1: negativo; 2: positivo

POS	Soropositividade canina para LV	0: IgG negativo (soronegativo); 1: IgG positivo (soropositivo)
Características dos cães e domicílios		
COORDX	Longitude (SIRGAS 2000)	Contínuo (graus)
COORDY	Latitude (SIRGAS 2000)	Contínuo (graus)
TIME	Tempo de permanência na casa atual	Contínuo (meses)
RESID	Número de domicílios	Contável
ROOM	Número de cômodos	Contável
CHICK	Presença de galinheiro no domicílio	0: não; 1: sim
N.CHICK	Presença de galinheiro na vizinhança	0: não; 1: sim
YARD	Presença de quintal no domicílio	0: não; 1: sim
PARK	Parques ou áreas verdes na vizinhança	0: não; 1: sim
N°DOGS	Número de cães no domicílio	0: 0-10; 1: + 10
DIED	Causa da morte de cães anteriormente residentes no domicílio	0: não ou por velhice*; 1: por infecção canina; 2: Outras razões
Covariáveis relativas aos cães		
SEX	Sexo do cão	0: fêmea; 1: macho
AGE	Idade do cão	Contínuo (meses)
HAIR	Tamanho do pelo do cão	0: longo; 1: curto
SIZE	Porte do cão	0: pequeno ou médio; 1: grande
WHERE	Onde o cão permanece durante o dia	0: dentro do domicílio; 1: em abrigo no quintal; 2: no quintal sem abrigo ou na rua
WALK	Se o cão passeia	0: não; 1: sim
NIGHT	Onde o cão permanece durante a noite	0: dentro do domicílio; 1: em abrigo no quintal; 2: no quintal sem abrigo ou na rua
ADOPT	Se o cão foi adotado da rua	0: não; 1: sim

* O cão morreu naturalmente por uma doença associada ao envelhecimento.

3.2.4.2 Análise Exploratória

Em primeiro lugar, foi realizada uma análise exploratória das covariáveis, para avaliar sua colinearidade, para calcular a porcentagem de dados faltantes e para identificar possíveis outliers. E gráficos de pontos (dot plot charts) foram utilizados para procurar valores aberrantes, enquanto a colinearidade entre as covariáveis foi avaliada usando o fator de inflação da variância (VIF – variance inflation factor), considerando VIF <3.00 como ponto de corte (ZUUR et al., 2010). Covariáveis com dados faltantes foram identificadas e assumiu-se que a falta ocorreu ao acaso. Foi realizada a imputação de dados faltantes usando a imputação multivariada por método de equações encadeadas (BUUREN & GROOTHUIS-

OUDSHOORN, 2011). Este procedimento foi realizado utilizando-se o "*mice*" no programa R versão 3.2.3 (R CORE TEAM, 2017).

3.2.4.3 Modelo Estatístico

A soropositividade de um cão para LV (soropositivo / soronegativo) (POS) foi modelada usando-se uma distribuição de probabilidade de Bernoulli (equações 1, 2 e 3) em um contexto bayesiano:

$POS_i = B(\pi_i)$ (1),

$E(POS_i) = \pi_i$ (2),

$logit(\pi_i) = \alpha + \sum_{p=1}^{p} \beta_p x_{pi} + W(s_i)$ (3),

onde i = 1, ..., N representa a ID de um cão em particular; π_i = probabilidade de um cão ser soropositivo para LV; α = intercepto; β_p = vetor de parâmetros de regressão; x_{pi} = matriz de covariáveis; s_i = coordenadas geográficas da localização residencial do cão; e W (s_i) = efeitos aleatórios estruturados espacialmente. W (s_i) é a realização de um campo Gaussiano (GF – Gaussian field) estacionário e latente que modela a dependência espacial relacionada à localização dos cães (coordenadas geográficas):

$W \sim MVN(0, \Sigma)$

A função de covariância espacial de Matérn (CRESSIE, 1993) foi utilizada para modelar a matriz de covariância espacialmente estruturada, usando a distância euclidiana entre as localizações geográficas dos cães. A função de covariância espacialmente estruturada foi modelada usando-se a equação diferencial parcial estocástica (SPDE – stochastic partial differential equation) e um campo aleatório Gaussiano Markoviano (GMRF – Gaussian Markov random field) para representar o GF (LINDGREN et al., 2011).

Inferências foram feitas em um contexto bayesiano usando a abordagem INLA (Integrated Nested Laplace Approximation ou Aproximações de Laplace aninhadas integradas) (RUE et al., 2009). Para isso, foi utilizado o programa R e a biblioteca R-INLA (www.r-inla.org). Em primeiro lugar, foram obtidos os cinco conjuntos de dados imputados usando "*mice*". Em seguida, realizou-se uma modelagem incluindo intercepto, covariáveis e a componente espacial para cada banco de dados imputado. As estimativas obtidas foram combinadas usando-se as regras de Rubin (RUBIN, 1987). Este modelo foi denominado modelo de covariável espacial de dados imputados, sendo considerado o modelo final.

Com o intuito comparar possível modelos, foram criados 1) um modelo incluindo o intercepto, as covariáveis e a componente espacial para o conjunto de dados completo, isto é, para os dados sem imputação (modelo de covariável espacial para os dados completos); 2) um modelo básico com apenas o intercepto e a componente espacial (modelo espacial de intercepto) para avaliar a importância das covariáveis na explicação da correlação espacial; 3) um modelo sem a componente espacial usando os conjuntos de dados imputados (modelo de covariável não espacial para os dados imputado). Os modelos foram comparados através do "Deviance Information Criterion" (DIC) (BLANGIARDO & MICHELETTI, 2015). Médias posteriores dos efeitos fixos e os respectivos intervalos de credibilidade (IC) de 95%, foram apresentados para todos os modelos, tanto na escala logit (betas) e escala natural (odds ratio).

3.3 METODOLOGIA PARA ATENDER O OBJETIVO III

3.3.1 Tipo, Área de Estudo, População e Período

Estudo de dados secundários e primários a partir de inquérito sorológico canino realizado nas áreas com maior incidência da doença humana nos municípios de Araçatuba e Birigui. Essas áreas foram definidas, para Araçatuba, a partir dos resultados do objetivo I desta tese. E para Birigui, esta área foi definida com base no estudo de VIEIRA et al. (2014) que identificou clusters de alto risco na área urbana deste município.

3.3.2 Coleta de Dados

3.3.2.1 Dados Secundários

As informações sobre os cães amostrados e testados, assim como os eutanasiados, no período de 2012 a 2014, foram disponibilizadas pelo CCZ de cada município. Essas informações foram incluídas em planilhas Excel e foram calculadas as soroprevalências canina e as coberturas de controle. Foram observadas neste período, soroprevalências de 8% em Araçatuba e 10% em Birigui. A cobertura do inquérito sorológico foi calculada pela divisão entre o número de cães avaliados pelo CCZ e o número de cães existentes, tomando-se como base a proporção de um cão para cinco pessoas, como estimado por NUNES (1997). Já a cobertura da eutanásia foi calculada pela divisão entre o número de cães com diagnóstico positivo e o número de cães eutanasiados. Conforme recomendação do PNVCLV a média anual das coberturas do controle do reservatório canino foram calculadas considerando os 3 anos anteriores ao estudo (BRASIL, 2016). Dessa forma, verificou-se no período de estudo nos municípios de Araçatuba e Birigui, respectivamente, 9% e 7% coberturas de inquérito e 43% e 66% de eutanásia. Essas coberturas de controle foram utilizadas como parâmetros de

controle nos modelos, e como tamanho da população (N), uma estimativa da quantidade de cães dessas regiões estudadas.

3.3.2.2 Dados Primários

O inquérito sorológico canino executado em Araçatuba, no período de setembro de 2015 a abril de 2016, está descrito no item 3.2 desta tese. Em Birigui o inquérito sorológico, realizado no período de abril a julho de 2016, seguiu a mesma metodologia do que foi realizado em Araçatuba. Porém, em Birigui, o número de equipes de pesquisa foi maior (4), cada uma composta por um agente de endemias do CCZ, um entrevistador e um veterinário, contratados com fundos do projeto de pesquisa. Da mesma forma que em Araçatuba, antes do início do trabalho, os membros das equipes foram treinados para abordar os tutores, preencher o questionário, realizar o exame clínico e coletar sangue dos cães.

A soroprevalência canina observada foi representativa da região contínua de maior incidência da doença humana nos municípios, considerando uma precisão de 1,5% e significância de 5% da amostra. Foram observadas soroprevalências de 8% (6 - 10: Intervalo de confiança de 95%) em Araçatuba e 4% (3 – 5: Intervalo de confiança de 95%) em Birigui, essas medidas foram utilizadas como parâmetros os modelos.

3.3.3 Modelo Dinâmico

A dinâmica da transmissão da infecção foi representada por modelos dinâmicos adaptados do modelo proposto por Costa et al. (2013). Foram testados dois modelos, um considerando indiretamente a transmissão vetorial denominado modelo original, e outro considerando a dinâmica de transmissão nos flebotomíneos baseada nas equações do modelo de transmissão vetorial descrito em Nishiura (2006)

3.3.3.1 Premissas dos Modelos

Em ambos os modelos propostos as populações são mantidas constantes no tempo, ou seja, a taxa de natalidade (entrada de indivíduos na população) corresponde à quantidade de indivíduos que morrem, seja por causas naturais ou por efeito da doença. Uma das dificuldades apontadas no controle da LV canina é a reposição de cães na população após a eutanásia dos soropositivos (NUNES et al., 2008). Dessa forma, na presença de controle por eutanásia, modelou-se a reposição de 100% dos cães eutanasiados. Assume-se que todos os cães nascem suscetíveis à infecção e há homogeneidade na exposição dos cães suscetíveis ao agente etiológico. Assume-se também que a transmissão ocorre numa taxa constante e que, no

modelo original, está implícito que a transmissão é mediada por picadas de flebotomíneos infectantes.

Segundo a história natural da infecção, após a aquisição do agente etiológico, o cão permanece em estágio de latência (E) durante a qual os cães não participam da transmissão da infecção e são negativos aos testes sorológicos. De forma simplificada, os cães podem vir a apresentar ou não sintomas, caracterizando-se como, respectivamente, sintomáticos (Is) ou assintomáticos (Ia). Estudos observaram que após um determinado período, uma parcela de cães assintomáticos apresenta sinais clínicos da doença, esse processo foi incorporado ao modelo através de uma taxa (l) (POZIO et al., 1981; MARZOCHI et al., 1985). Quanto a longevidade, apesar de em cães sadios possa variar entre raças e tamanho, utilizou-se uma longevidade única de 12 anos (Shimozako et al, 2017). Não foi considerado nos modelos uma classe de indivíduos recuperados, uma vez que a infecção não apresenta cura parasitológica, apesar de ser possível alcançar o desaparecimento dos sintomas, conferindo assim cura clínica (BRASIL, 2016). Considerou-se como indivíduo infectante (Is e Ia, e após o diagnóstico Ds e Da), um cão infectado capaz de transmitir o parasito de forma competente ao vetor, e a partir deste, o parasito ser transmitido para outro indivíduo, onde se dará a infecção.

No presente estudo, a medida de controle por eutanásia foi subdividida em duas ações: inquérito sorológico (r), identificação e coleta de amostra de sangue dos cães, e eutanásia dos cães com diagnóstico positivo (f). A entrada do controle no modelo discrimina dentre os cães infectantes (Is e Ia) os amostrados pelos inquéritos e com diagnóstico positivo (Ds e Da). Foi considerada uma sensibilidade de diagnóstico diferente para cães sintomáticos (di) e cães assintomáticos (da).

No modelo com vetor, a população de vetores é dividida em suscetíveis (V1), latentes (V2) e infectantes (V3). Assume-se que a transmissão é mediada por picadas de flebotomíneos infectantes (V3). A dinâmica da infecção nos cães é a mesma do modelo original.

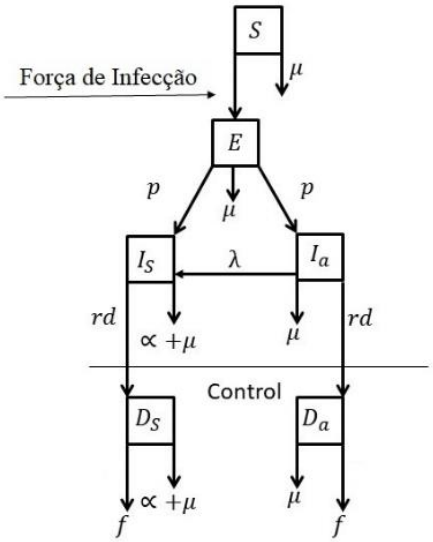
3.3.3.2 Equações dos Modelos

A transmissão do agente etiológico de indivíduos infectantes para susceptíveis é denominada força de infecção, que depende do número de contatos (mediados pelo vetor) que uma fração de indivíduos infectantes tem com susceptíveis por unidade de tempo e da probabilidade de que esses indivíduos susceptíveis, a partir do contato, adquiram a infecção. A força de infecção é apresentada de forma diferente nos modelos original e com vetor.

Inicialmente, pretendia-se calcular a força de infecção a partir da curva de soroprevalência canina por faixa etária baseando-se no estudo de SALLUM et al. (2000), porém, nas amostras de ambos os municípios, a idade não representou um fator de risco. Sendo assim, os modelos foram calibrados de forma que no equilíbrio endêmico da infecção, momento em que a transmissão se mantem estável e os valores das classes de indivíduos no modelo permanecem constante no tempo, a soroprevalência correspondesse a observada pelos inquéritos sorológicos canino realizado nos municípios de estudo.

3.3.3.2.1 Modelo Original

No modelo original (Figura 2), não existe uma representação explícita do vetor, de forma que o contato modelado é direto entre cães suscetíveis e infectados. Optamos por não representar a dinâmica vetorial pelos seguintes motivos: 1) não há dados para parametrizar a dinâmica de flebotomíneos na área de estudo, 2) a dinâmica vetorial é rápida, da ordem de dias enquanto que a dinâmica nos cães tem escala de meses. Neste modelo, o parâmetro (β), que compõe a equação da força de infecção, é o único parâmetro livre.



$$Força\ de\ infecção\ canina = \beta * S/N * \left(q_a * (I_a + D_a) + q_b * (I_s + D_s)\right)$$

Figura 2 – Fluxo de indivíduos no modelo dinâmico

As equações do Modelo original são apresentadas a seguir:

$$n = \left(\mu * (S + E + I_s + I_a + D_s + D_a) + f * (D_s + D_a) + \alpha * (I_s + I_a)\right) \quad (1)$$

$$N = (S + E + I_s + I_a + D_s + D_a) \quad (2)$$

$$\frac{dS}{dt} = n - \beta * S/N * \left(q_a * (I_a + D_a) + q_b * (I_s + D_s)\right) - \mu * S \text{ (3)}$$

$$\frac{dE}{dt} = \beta * S/N * \left(q_a * (I_a + D_a) + q_b * (I_s + D_s)\right) - E * (i + \mu) \text{ (4)}$$

$$\frac{dIs}{dt} = p * i * E + l * I_a - I_s * (r + di + \alpha + \mu) \text{ (5)}$$

$$\frac{dIa}{dt} = E * i * (1 - p) - I_a * (l + r + da + \mu) \text{ (6)}$$

$$\frac{dDs}{dt} = I_s * (r + di) + D_a * l - D_s * (f + \alpha + \mu) \text{ (7)}$$

$$\frac{dDa}{dt} = I_a * (r + da) - D_a * (l + f + \mu) \text{ (8)}$$

Equações:

(1) Natalidade
(2) População
(3) Fluxo de indivíduos susceptíveis
(4) Fluxo de indivíduos latentes
(5) Fluxo de indivíduos infectantes sintomáticos
(6) Fluxo de indivíduos infectantes assintomáticos
(7) Fluxo de indivíduos diagnosticados positivos e sintomáticos
(8) Fluxo de indivíduos diagnosticados positivos e assintomáticos

A taxa de natalidade está representada na equação (1), a equação (3) corresponde à taxa de variação da população de indivíduos no instante t que são susceptíveis. Nesse modelo admite-se que a infectividade de cães com e sem sintomas seja diferente, qa para assintomáticos e qb para sintomáticos. A equação (4) representa a taxa de variação da população de indivíduos em estágio de latência, infectados mas não infectantes, a cada instante de tempo t e que passam a apresentar sintomas após um período de latência i. Na equação (5) a taxa de variação da população de cães infectantes sintomáticos aumenta, conforme uma proporção (p) de novos indivíduos em estágio de latência ($i * E$) tornam-se sintomáticos infectantes e cães assintomáticos (l) apresentam sintomas, e diminui conforme cães morrem por causas naturais numa taxa μ ou por efeito da doença (α). Na equação (6) a taxa de variação da população de cães infectantes assintomáticos aumenta, conforme uma proporção (1 – p) de novos indivíduos em estágio de latência ($i * E$) passam a ser infectantes, porém permanecem sem

sintomas, e diminui conforme cães passam a apresentar sintomas e indivíduos dessa classe morrem por causas naturais numa taxa μ.

As atividades de controle atingem os cães das classes Is e Ia, pois, os testes diagnósticos utilizados na rotina dos inquéritos sorológicos realizados pelo PNVCLV detectam a infecção após o estágio de latência. Considerando que esses testes diagnósticos não são capazes de diferenciar cães infectados de cães infectantes, assume-se para este modelo que todos os cães das classes Is e Ia são infectantes. A partir do diagnóstico sorológico, os indivíduos soropositivos passam a compor as subclasses Ds e Da, respectivamente, dentro das classes Is e Ia. Nas equações (7) e (8) a taxa de variação da população de cães infectantes diagnosticados aumenta, conforme novos indivíduos infectantes são rastreados pelo inquérito sorológico a uma proporção r e diagnosticados positivos na proporção d. Seguindo as equações (5) e (6), respectivamente, cães da subclasse Ds podem morrer por causas naturais a uma taxa μ ou por efeito da doença (α), enquanto que os indivíduos da subclasse Da podem apresentar sintomas a uma taxa l e morrerem por causas naturais antes de serem eutanasiados. Os parâmetros e seus significados estão descritos no Quadro 2.

Quadro 2 – Parâmetros e símbolos utilizados no modelo original.

Símbolo	**Significado**	**Valor (unidade) Modelo Araçatuba**	**Valor (unidade) Modelo Birigui**	**Referência**
S	Cães suscetíveis	-	-	-
E	Cães latentes	-	-	-
Ia	Cães assintomáticos infectantes	-	-	-
Is	Cães sintomáticos infectantes	-	-	-
Da	Cães assintomáticos infectantes diagnosticados positivos	-	-	-
Ds	Cães sintomáticos infectantes diagnosticados positivos	-	-	-
N	População canina	8.538 cães	11.958 cães	IBGE, 2010.
μ	Taxa mortalidade natural	$2{,}28\ 10^{-4}$ dia^{-1}		Shimozako et al, 2017
α	Taxa mortalidade induzida pela infecção	$1{,}81\ 10^{-3}$ dia^{-1}		Shimozako et al, 2017
l	Taxa de cães assintomáticos que evoluem para sintomáticos	$6{,}94\ 10^{-3}$ dia^{-1}		Pozio *et al*, 1981
i	Taxa de latência	$3{,}3\ 10^{-2}$ dia^{-1}		Maia et al., 2010

β	Componente da taxa de infecção	3,06 10^{-3} dia^{-1}	2,95 10^{-3} dia^{-1}	Valor encontrado na calibração do modelo
p	Proporção de cães que evoluem para sintomáticos infectantes após período de latência	0,32		Sevá et al., 2016
qa	Infectividade de Ia	0,385		Laurenti et al., 2013
qb	Infectividade de Is	0,247		Laurenti et al., 2013
r	Cobertura anual de inquérito	0,09	0,07	*SUCEN
da	Sensibilidade do diagnóstico de assintomáticos	0,47		Grimaldi et al., 2012
di	Sensibilidade do diagnóstico sintomáticos	0, 98		Grimaldi et al., 2012
f	Cobertura anual de eutanásia canina	0,43	0,66	*SUCEN

*SUCEN = Superintendência de Controle de Endemias.

3.3.3.2.2 Modelo com vetor

Neste modelo, a força de infecção nos cães é influenciada diretamente pela dinâmica de infecção vetorial. Os parâmetros e símbolos utilizados no modelo com vetor são apresentados no Quadro 3.

Quadro 3 – Parâmetros e símbolos utilizados no modelo com vetor.

Símbolo	**Significado**	**Valor (unidade) Modelo Araçatuba**	**Valor (unidade) Modelo Birigui**	**Referência**
V1	Flebotomíneos não infectados	-	-	-
V2	Flebotomíneos infectados e não infectantes	-	-	-
V3	Flebotomíneos infectantes	-	-	-
b	Fração de picadas efetivas	1 10^{-2} dia^{-1}		Shimozako et al, 2017
ac	Taxa média de picadas	2 10^{-1} dia^{-1}		Shimozako et al, 2017
pv	período de incubação extrínseca	1,4 10^{-1} dia^{-1}		Shimozako et al, 2017
mv	Taxa de mortalidade do vetor	5 10^{-2} dia^{-1}		Shimozako et al, 2017

Equações do modelo com o vetor são apresentadas a seguir:

$$n = \left(\mu * (S + E + I_s + I_a + D_s + D_a) + f * (D_s + D_a) + \alpha * (I_s + I_a)\right) \quad (1)$$

$N = (S + E + I_s + I_a + D_s + D_a)$ (2)

$\frac{dS}{dt} = n - (b * ac * S * V3)/N - \mu * S$ (3)

$\frac{dE}{dt} = (b * ac * S * V3)/N - E * (i + \mu)$ (4)

$\frac{dIs}{dt} = p * i * E + l * I_a - I_s * (r + di + \alpha + \mu)$ (5)

$\frac{dIa}{dt} = E * i * (1 - p) - I_a * (l + r + da + \mu)$ (6)

$\frac{dDa}{dt} = I_a * (r + da) - D_a * (l + f + \mu)$ (7)

$\frac{dDs}{dt} = I_s * (r + di) + D_a * l - D_s * (f + \alpha + \mu)$ (8)

$nv = mv * (V1 + V2 + V3)$ (9)

$\frac{dV1}{dt} = nv - \big((ac * qb * I_s) + (ac * qa * I_a)\big)/N - V1 * mv$ (10)

$\frac{dV2}{dt} = \big((ac * qb * I_s) + (ac * qa * I_a)\big)/N - V2 * (\mu v + pv)$ (11)

$\frac{dV3}{dt} = V2 * pv - V3 * mv$ (12)

Equações:

(1) Natalidade cães
(2) População de cães
(3) Fluxo de cães susceptíveis
(4) Fluxo de cães latentes
(5) Fluxo de cães infectantes sintomáticos
(6) Fluxo de cães infectantes assintomáticos
(7) Fluxo de cães diagnosticados positivos e sintomáticos
(8) Fluxo de cães diagnosticados positivos e assintomáticos
(9) População vetorial
(10) Fluxo de flebotomíneos susceptíveis
(11) Fluxo de flebotomíneos latentes
(12) Fluxo de flebotomíneos infectantes

As equações da dinâmica da infecção nos cães (1 – 8), com exceção das equações (3) e (4), são semelhantes as do modelo original. A equação (3) corresponde à taxa de variação da população de cães no instante t que são susceptíveis. Esses cães tornam-se infectados, mas não infectantes, a cada instante de tempo t dependendo da força de infecção, que envolve três fatores: concentração de vetores infectantes (V3) próximo a esses cães, taxa de picadas ac e fração de picadas efetivas b. Esses cães infectados tornam-se infectantes após um período de latência i. Quanto a dinâmica da infecção no vetor, a taxa de natalidade vetorial está representada na equação (9), a equação (10) corresponde à taxa de variação da população de flebotomíneos no instante t que são susceptíveis. Os vetores passam para um estado de latência (V2), no qual os indivíduos estão infectados, mas não infectantes, a partir de uma força de infecção vetorial que considera: a densidade de cães infectantes (Is e Ia) próximo ao vetor, taxa de picadas ac e infectividade de cães, qa para assintomáticos e qb para sintomáticos. A equação (11) representa o fluxo de flebotomíneos que após um período de incubação extrínseca passam para o compartimento de indivíduos infectantes (V3). Por fim, a equação (12) representa fluxo de vetores infectantes. Neste modelo, todos os flebotomíneos podem morrem por causas naturais numa taxa μv.

As atividades de controle simuladas são direcionadas aos cães das classes Is e Ia, da mesma forma que ocorre no modelo original.

3.3.4 Análises

Os modelos foram implementados no programa R versão 3.2.3 (R Core Team, 2017), e resolvido numericamente utilizando a biblioteca “deSolve”. Cenários de aplicação do controle do reservatório canino por eutanásia dos soropositivos são representados no modelo pelos parâmetros: cobertura de inquérito sorológico (r), correspondente á identificação e coleta de amostra de sangue dos cães; sensibilidade do diagnóstico de cães sintomáticos (di) e sensibilidade do diagnóstico de cães assintomáticos (da); e cobertura de eutanásia dos cães com diagnóstico positivo (f). O modelo discrimina entre os cães infectantes, os que não foram diagnosticados (Is e Ia) e os cães que foram amostrados e receberam diagnóstico positivo (Ds e Da).

3.3.4.1 Cenários de Controle

Foram analisados três cenários afim de se verificar a eficácia do controle do reservatório canino aplicado na rotina do PNVCLV nos municípios estudados. Foram testados os cenários:

cenário de referência, cenário sem controle e cenário de controle aumentado. A variável analisada foi a soroprevalência:

$$Soroprevalência = \left((I_s + I_a + D_s + D_a)/(S + E + I_s + I_a + D_s + D_a)\right) * 100$$

No cálculo da soroprevalência não foram considerados os cães em estado de latência (E), uma vez que esses cães não são detectados pelos testes sorológicos e não participam da transmissão. Os resultados das simulações dos cenários de controle foram verificados ao final de períodos de 10, 20, 30 e 40 anos.

No primeiro cenário, cenário de referência, o modelo foi calibrado considerando a estratégia do controle do reservatório canino observada na rotina do PNVCLV nos municípios estudados. O objetivo foi estimar a taxa de transmissão que explica a atual soroprevalência mensurada. Essas simulações deram-se da seguinte forma:

1. Atribuiu-se um valor, ao fator β no modelo original, e as concentrações iniciais de vetores suscetíveis (V1) e infectados (V2) no modelo com vetor.
2. Rodou-se os modelos até que chegassem ao equilíbrio endêmico.
3. No equilíbrio foram calculadas as soroprevalências canina. Este procedimento foi realizado até se chegar a valores de β, V1 e V2 compatíveis com as soroprevalências observadas no inquérito sorológico realizado em cada município, 8% para Araçatuba e 4% para Birigui.

No segundo cenário, cenário sem controle, foi rodado considerando a força de infecção observada no cenário de referência para cada modelo. Testou-se o impacto do controle realizado atualmente a partir do aumento da soroprevalência seguindo a seguinte ordem:

1. Utilizou-se como condições iniciais as concentrações de indivíduos por classes obtidos no equilíbrio endêmico em cada modelo. No modelo original, foi utilizado o valor do fator β obtido no equilíbrio endêmico.
2. Os valores dos parâmetros referentes ao controle (r, da, di e f) foram mantidos nulos neste cenário.
3. Rodou-se o modelo até se obter um novo equilíbrio endêmico
4. O valor da soroprevalência neste novo cenário foi comparado com a soroprevalência no cenário de referência.

No Terceiro cenário, cenário de controle aumentado, atribuiu-se valores as coberturas de inquérito sorológico e eutanásia de forma que no equilíbrio endêmico a infecção fosse controlada (soroprevalência igual a zero).

3.3.4.2 Cálculo do R0

Foi verificado o número de reprodução basal ($R0$) da infecção canina para o cenário de referência de Araçatuba e Birigui utilizando a fórmula sugerida por Costa et al.,2013. O objetivo foi verificar se o R0 observado no cenário de referência estaria dentro da faixa observada por aqueles autores para regiões com valores de soroprevalência entre 3% ($R0$=1,09) e 15% ($R0$=1,29). Contudo, o cenário de referência foi simulado considerando a situação epidemiológica atual nos municípios, na qual há atuação das medidas de controle. Portanto, com base na a fórmula sugerida por Costa et al.,2013 foi calculado o número de reprodução efetivo (Rt), que considera a influência das atividades de controle do reservatório canino na estimativa do número médio de casos secundários produzidos por um caso infectante no tempo t para $t > 0$.

3.4 QUESTÕES ÉTICAS

Este estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Escola de Saúde Pública - USP (CAAE: 38170514.4.0000.5421) e Comitê de Ética em Uso de Animais da Escola de Medicina Veterinária de Araçatuba - UNESP (FOA: 2015-00170). (Anexos III e IV)

RESULTADO E DISCUSSÃO

Nesse capítulo os resultados e discussões de cada objetivo da tese são apresentados em formato de artigos científicos. Os dois primeiros artigos foram submetidos a revistas científicas e são apresentados aqui da mesma forma em que foram submetidos. O terceiro artigo foi escrito no formato exigido pelo Cadernos de Saúde Pública da Fundação Oswaldo Cruz a fim de posterior submissão.

4.1 RESULTADO REFERENTE AO OBJETIVO I

Artigo publicado pela Revista de Saúde Pública e que atende ao primeiro objetivo desta tese. O comprovante de aceite encontra-se no ANEXO V.

Costa DNCC, Bermudi PMM, Rodas LAC, Nunes CM, Hiramoto RM, Tolezano JE, et al**.** **Leishmaniose visceral em humanos e relação com medidas de controle vetorial e canino**. Rev Saude Publica. 2018; 52(92):1-11.

RESUMO

Objetivos: Estimar a cobertura das atividades de controle da leishmaniose visceral (LV) e relacioná-las com a ocorrência de LV em humanos (LVH) em área urbana endêmica (Araçatuba, SP) **Métodos**: Foram considerados como população de estudo os casos de LVH e os cães avaliados por inquérito sorológico censitário realizado pelo município, no período de 2007 a 2015. Os casos de LVH foram geocodificados pelo endereço de residência dos pacientes e os cães, pelo endereço de residências dos respectivos tutores. Foram calculadas as coberturas do inquérito sorológico, da eutanásia e de borrifação de inseticida, as soroprevalência caninas e as taxas de incidência de LVH. A relação entre a LVH e as medidas de controle, bem como a soroprevalência foi avaliada por comparação de mapas e por meio de regressão linear. A relação entre doença canina e humana também foi avaliada por meio da função K de Ripley. **Resultados**: As taxas de incidência de LVH apresentaram um período de declínio (2007 a 2009) e um período de estabilidade (2010 a 2015), comportamento semelhante ao das soroprevalências caninas. Em geral, a cobertura das medidas de controle foi baixa e a não associação com a incidência de LVH pode ser consequência do período analisado e do número pequeno de unidades de analisadas (setores SUCEN). A distribuição dos casos humanos apresentou dependência espacial com a distribuição dos cães soropositivos

no período de 2007 a 2009. **Conclusões**: Este trabalho reafirmou relação entre a ocorrência da doença no homem e no cão (LVC), verificou a diminuição das taxas de LVH e LVC em Araçatuba ao longo do tempo, mesmo em baixa cobertura das atividades de controle, Entretanto novos estudos precisam se desenvolvidos para uma melhor compreensão se fatores além das atividades de vigilância e controle estariam envolvidos na diminuição das incidências.

Palavras-chave: Análise espacial, diagnóstico, eutanásia

ABSTRACT

Objectives: To estimate the coverage of visceral leishmaniasis (VL) control measures and to relate them to the occurrence of LV in humans (HVL) in an endemic urban area (Araçatuba, SP). Methods: We considered as the study population the HVL cases and the dogs evaluated by a census serological inquiry carried out by the municipality, from 2007 to 2015. The cases of HVL were geocoded using the patients' residence address and for the dogs, the address of the respective guardians' homes. The coverage of the serological inquiry, culling dogs and chemical spaying, canine seroprevalence and HVL incidence rates were calculated. The relationship between HVL and control measures, as well as the seroprevalence was evaluated by map comparison and by linear regression. The relationship between canine and human disease was also assessed using the Ripley K function. **Results:** HVL incidence rates showed a period of decline (2007 to 2009) and a period of stability (2010 to 2015), and the canine seroprevalences had a similar behavior. In general, coverage of control measures was low and the non-association with the incidence of HVL may be a consequence of the period analyzed and the small number of units analyzed (SUCEN sectors). The distribution of human cases presented spatial dependence with the distribution of seropositive dogs from 2007 to 2009. **Conclusions:** This work reaffirmed the relationship between the occurrence of the disease in man and in the dog, verified the decrease of HVL and the canine seroprevalence in Araçatuba over time, even in low coverage of control measures. However, new studies need to be developed to better understand whether factors other than surveillance and control measures are involved in reducing incidences.

Keywords: Spatial Analysis, diagnosis, Euthanasia

INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral é considerada uma entre as seis endemias prioritárias no mundo. Além de ser uma doença tropical negligenciada que, se não tratada, apresenta alta letalidade em humanos, é emergente em indivíduos desnutridos ou portadores do vírus da imunodeficiência adquirida. No Brasil, esta zoonose era considerada típica de zonas rurais com cerca de 90% dos casos notificados na região nordeste.[1,2,3] Desde a década de 80 a LV tem se expandido para as demais regiões brasileiras, com destaque para a região sudeste. Esta expansão está relacionada, entre outros fatores, com os processos de urbanização, desmatamento e migração humana.[4]

As ações do Programa Nacional de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (PNVCLV) são direcionadas ao hospedeiro, a partir de ações de educação e saúde e tratamento dos casos humanos; ao vetor, por investigação entomológica sobre os flebotomíneos transmissores da LV, borrifação de inseticidas no intra e peridomicílio e manejo ambiental; e ao reservatório canino, através do controle da população canina e da eutanásia de cães soropositivos. Entretanto, existem dúvidas se essas ações apresentam, no Brasil, efetividade suficiente para que a incidência seja reduzida.[5,6,7] Atualmente o Ministério da Saúde (MS) aceita a vacinação de cães contra LVC e o uso de coleiras impregnadas com deltametrina como ações de controle individual, uma vez que ainda não fora comprovada a eficácia dessas ações como medidas de controle a nível de saúde pública.[1,2,3]

O presente estudo teve o objetivo de mensurar as coberturas das atividades do controle químico e do reservatório canino relacionando-as com a ocorrência de casos humanos em Araçatuba – SP. A escolha deste município como área de estudo deu-se por sua importância epidemiológica, pois foi o primeiro, no estado de São Paulo, a verificar a presença do vetor, em 1997 e o primeiro a fazer confirmação de caso autóctone da doença humana, em 1999, um ano após o registro de casos caninos.[5,8] Desde então a área urbana do município se tornou endêmica para a doença, apesar de nos últimos anos, se observar uma queda no número de casos humanos.[9]

MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido na zona urbana de Araçatuba, localizado na região noroeste do estado de São Paulo, endêmica para LV desde 1999 com população estimada em 193.828 habitantes.[10] Foram considerados como população de estudo os casos de LVH e os cães

avaliados por inquéritos sorológicos realizados pelo Centro de Controle de Zoonoses de Araçatuba (CCZ) no período de 2007 a 2015.

Foram estabelecidas como unidades de análises os setores delimitados e utilizados pelo município e pela Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN) para a realização das atividades de vigilância e controle, definidos como "setores SUCEN". Estes foram constituídos por dois ou mais setores censitários, elaborados digitalmente, utilizando-se a operação dissolver (para áreas coincidentes) e ferramenta de nós (para áreas não coincidentes) do programa QGIS versão 2.16.2.[11] Para isso, foi utilizado um mapa físico de Araçatuba, fornecido pelo município, contendo as delimitações destes setores e dos setores censitários, e um mapa digital dos setores censitários, obtido do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Além da construção do mapa digital, todas as informações de população que estavam segregadas em setores censitários foram dissolvidas segundo os "setores SUCEN".

Dentre as ações de vigilância e controle da LV foram considerados, neste estudo, o controle químico em imóveis no entorno de casos autóctones de LVH para eliminação do vetor (borrifação de inseticida no intra e peridomicílio) e a identificação de cães positivos por meio de testes sorológicos e eutanásia dos mesmos (controle do reservatório canino). Estas informações são registradas em boletins de campo que foram disponibilizadas pelo CCZ e incluídas em planilhas Excel. As recomendações contidas no Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral do MS e do estado de São Paulo foram utilizadas como referências para a avaliação das coberturas destas ações de controle.[1,2,3]

A cobertura das atividades de borrifação de inseticida foi calculada pela razão entre o número de imóveis que foram borrifados e o de imóveis que foram programados para este fim, ou seja, a razão do realizado pelo programado. Para o cálculo dos imóveis que deveriam ser borrifados em um determinado ano considerou-se uma área de no mínimo 200 metros de raio em torno do local dos casos registrados de LVH nos dois anos anteriores.[1]

A realização anual de inquérito sorológico canino censitário era prevista, até o ano de 2016, para regiões com transmissão intensa da doença. Por Araçatuba estar nessa classificação de risco, para cada ano estudado a cobertura do inquérito sorológico foi calculada pela divisão entre o número de cães avaliados pelo CCZ e o número de cães existentes, tomando-se como base a proporção de um cão para cinco pessoas.[12] O cão é

considerado soropositivo caso tenha apresentado resultado positivo em ambos os testes diagnósticos utilizados (um de triagem e outro confirmatório). A soroprevalência, foi calculada a partir da divisão do número de cães soropositivos pelo de cães avaliados no mesmo período. Quanto à atividade de eutanásia, sua cobertura foi calculada a partir da divisão do número de cães eutanasiados pelo de cães soropositivos.

As informações sobre os casos de LVH (data de início de sintomas, idade e endereço de residência), foram obtidas com base em informações registradas no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) fornecidas pela Secretaria Municipal de Saúde de Araçatuba. Com bases nestas informações, foram calculadas as taxas de incidência (por área e período) e apresentadas por faixas etárias de 0-19 anos, 20-59 anos e 60 anos e mais e por fim foi calculado o percentual de diminuição da taxa de incidência entre os períodos de 2007 a 2009 e 2010 a 2015.[10]

Os casos de LVH foram geocodificados pelo endereço de residência dos pacientes e os cães avaliados no inquérito pelo endereço de residências dos respectivos tutores. Antes da geocodificação foi necessário a padronização dos endereços dos dados no formato dos endereços constantes no mapa de arruamento de Araçatuba a fim de identificar os logradouros através do programa TerraView.[13] As coberturas de borrifação de inseticida, inquérito sorológico e eutanásia, as soroprevalências caninas e as taxas de incidência de LVH foram calculadas, por ano e agrupamentos de anos, segundo os “setores SUCEN” para toda área urbana do município, sendo apresentadas em tabelas e mapas, estes elaborados no programa QGIS versão 2.16.2.[11]

A relação entre a doença humana e canina e as medidas de controle foi avaliada inicialmente com base na comparação dos respectivos mapas obtidos para cada ano do período de estudo. Esta avaliação também foi realizada com a utilização de modelos de regressão linear. Para esta análise, tomando-se como base o comportamento temporal da taxa de incidência, o período de estudo foi dividido em dois subperíodos (2007 a 2009 e 2010 a 2015) e foi gerado um modelo para cada subperíodo. Para a modelagem, definimos como variável dependente a taxa de incidência e como independentes as coberturas de borrifação de inseticida, do inquérito sorológico, de eutanásia e as soroprevalências caninas.

Previamente à modelagem, realizamos análise exploratória dos dados.[14] Para as modelagens das regressões lineares múltiplas, o método adotado para escolha dos modelos

mais apropriados foi o baseado na razão de verossimilhança, considerando o critério de melhor ajuste, os modelos que apresentaram menores Akaike's Information Criterion (AIC).[15] Estas análises foram rodadas no programa R versão 3.2.3.

Posteriormente, com o intuito de avaliar a existência de associação no espaço entre a ocorrência da doença no ser humano e no cão, foram feitas análises bivariadas por meio da função K de Ripley (para os dois subperíodos).[16] Trata-se de uma técnica de análise de pontos e que avaliou a hipótese da existência de dependência espacial entre as distribuições pontuais dos casos de LVH e LVC.

Este estudo recebeu aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da USP (CAAE: 38170514.4.0000.5421 – Parecer: 892.518 – Data de Relatoria: 11/12/2014).

RESULTADOS

A curva da tendência temporal da soropositividade canina e da taxa de incidência de LVH na área urbana do município de Araçatuba, entre 2007 e 2015 (Figura 1) apresentaram padrões que podem ser divididos em dois períodos distintos: um período de declínio, entre 2007 e 2009, seguido de um período, entre 2010 e 2015, de aparente estabilidade, no qual a soroprevalência média foi de 6,8%, com valores entre 5,0 e 10,0% e a taxa de incidência média foi de 2,6 casos por 100 mil habitantes, com média de 4,8 casos/ano. O percentual de diminuição da taxa de incidência entre os períodos foi de 79%, e foi observado semelhança no percentual por faixa etária, 79% no grupo de 0 a 19 anos, 78% no de 20 a 59 anos e 81% no de 60 anos e mais. A queda nas taxas em toda a área urbana foi acompanhada pela diminuição, com o passar do tempo, do número de “setores SUCEN” com casos de LVH e na magnitude das taxas nestes setores (Figura 2).

O inquérito sorológico canino apresentou coberturas entre 1,0 e 10,0%, com o menor valor em 2008 e o maior em 2013, não apresentando relação temporal com a taxa de incidência LVH, nem com a soroprevalência canina. A cobertura de eutanásia variou entre 30,0 e 60,0% e apresentou seu maior valor em 2008, o qual foi seguindo de queda, concordante com a diminuição das soroprevalências. A borrifação de inseticida foi a medida de controle que apresentou a menor cobertura, mantendo valores abaixo de 20,0% e com cobertura nula em quatro dos nove anos do estudo (Figura 1).

A coberturas dos inquéritos, segundo os anos e “setores SUCEN”, em geral foi inferior a 40,0%, sendo nula em muitos setores. Destacam-se os anos de 2007 e 2008, com as menores coberturas e maiores números de “setores SUCEN” não trabalhados (Figura 3). Comparando-se as Figuras 2 e 3, observa-se o desenvolvimento desta atividade frequentemente em áreas com ocorrências de casos no mesmo ano e nos dois anos posteriores.

A LVC, medida somente nos “setores SUCEN” avaliados, apresentou prevalências entre 0,0 e 40,0% (Figura 4). Destaca-se que os setores com soroprevalência nula ou acima de 40,0% apresentaram coberturas de inquérito sorológico, na quase totalidade, menores ou iguais a 20,0% (Figura 3). A maioria dos setores com cães soropositivos apresentaram coberturas de eutanásia entre 40,0 e 100,0%, mas notam-se setores com coberturas inferiores a 40,0% e vários com cobertura nula.

Com base na identificação de dois períodos com comportamentos distintos na distribuição temporal da taxa de incidência de LVH (Figura 1), optou-se por realizar a sua modelagem segundo estes dois períodos: 2007 a 2009 (declínio) e 2010 a 2015 (estabilidade). As análises exploratórias, realizadas segundo estes dois períodos, mostraram a necessidade da exclusão da cobertura de borrifação de inseticida, em função do pequeno número de “setores SUCEN” trabalhados e da transformação de variáveis para contornar problemas de outliers nas covariáveis. A análise para avaliar colinearidade entre as covariáveis apontou a necessidade de eliminar a cobertura de eutanásia, no primeiro período.

A modelagem por regressão linear da taxa de incidência do primeiro período revelou que o modelo de menor AIC era aquele com intercepto igual a 3,20 e significante ($p < 0,001$) e com a variável inquérito sorológico sem significância estatística (coeficiente igual a 0,07; $p = 0,140$). No segundo período, o melhor modelo incluiu apenas intercepto igual a 2,57 ($p = 0,010$) e nenhuma das covariáveis. Os resíduos destes modelos apresentaram distribuição normal, homocedasticidade e ausência de autocorrelação espacial.

Em resumo, não foram observadas associações significativas entre as taxas de LVH e as soroprevalências caninas e cobertura das atividades de controle em ambos os períodos de estudo. A relação positiva, apesar de não significante, entre as taxas de incidência e cobertura do inquérito sorológico no primeiro período de estudo é concordante com a constatação, feita acima ao se compararem as Figuras 2 e 3, de que a segunda atividade acompanharia a primeira no espaço, mas com alguma defasagem temporal.

A Figura 5A mostra que foi identificada dependência (ou atração) espacial, em distâncias de 400 a 800 metros, entre a distribuição de pontos dos casos de LVH e dos cães soropositivos no primeiro período de estudo. Estas duas variáveis têm dependência espacial, o que significa que os casos humanos e os cães soropositivos estão mais próximos do que seria esperado caso as suas distribuições fossem aleatórias. Já, no período de 2010 a 2015, com a diminuição da força de infecção da LV, não se identificou dependência espacial estatisticamente significante entre as duas variáveis. Ressalta-se que em ambas as curvas o padrão de agregação dos dados e os limites de confiança são semelhantes, porém, o número limitado das amostras no segundo período (2010 a 2015) pode ter dificultado a observação de relação espacial (Figura 5B).

DISCUSSÃO

As ações de controle da LV recomendadas pelo PNVCLV se baseiam no restabelecimento da saúde do paciente, na diminuição da densidade do vetor e das fontes de infecção canina para diminuir o potencial de transmissão ao homem. Estudos epidemiológicos têm verificado, em áreas urbanas, sobreposição entre locais com incidência de casos humanos e elevada soroprevalência canina, evidenciando a estreita relação entre a doença humana e canina.[4,17,18,19] Da mesma forma, no presente estudo, foi observada dependência espacial entre os casos humanos e caninos, pelo menos no período de 2007 a 2009. Além disso, observou-se também em todo o período de estudo concordância no tempo entre a ocorrência da doença no homem e nos cães.

As medidas de controle analisadas neste estudo (borrifação de inseticida e controle do reservatório canino) apresentaram, em geral, baixas coberturas no período estudado, com destaque para a borrifação, que teve as menores coberturas**,** o que impediu a verificação da efetividade dessa medida na diminuição da incidência da LVH. As dificuldades no controle vetorial vão além da adaptabilidade do vetor a ambientes urbanos e diferentes temperaturas, o que contribui para a sua dispersão a áreas livres de doença, a complexidade do controle químico e suas diversas dificuldades operacionais como a elevada recusa à aplicação do inseticida no intra e peridomicílio e principalmente, a falta de recursos materiais e humanos podem ter contribuído para as baixas coberturas.[7,20,21] Porém, esta é uma estratégia importante para o controle da LV uma vez que pode contribuir para a diminuição do número de picadas que resultem na transmissão do agente infectante, dificultando a transmissão da doença.[1,2,3,6]

Verificou-se que o foco das ações de controle canino em Araçatuba foram as áreas com ocorrência de LVH, com o intuito de diminuir o potencial de transmissão dessas áreas afetadas. Entretanto, a não realização das atividades de vigilância e controle em regiões sem ocorrência de casos humanos pode estar cooperando com a circulação da doença, uma vez que a doença canina precede a humana. [22,23]

Assim, diante das baixas coberturas dos inquéritos sorológicos, a soroprevalência deve ser analisada com cautela, uma vez que pode não representar a prevalência real da LVC em todo o município. A soroprevalência é influenciada pelo número de cães que foram submetidos aos testes diagnósticos nas áreas amostradas. O fato da amostragem não ser probabilística e o limitado número de unidades de análise, podem ter gerado um viés com relação a análise da soroprevalência. Não se sabe qual a proporção de cães infectados deixou de ser amostrada em relação a cães sadios e se áreas com maior ou menor soroprevalência foram amostradas com diferentes frações amostrais ou mesmo não amostradas. Contudo, a diminuição da soroprevalência pode estar cooperando com a queda nas taxas de incidência de LVH, pois estima-se, que a aparição de casos humanos ocorra após dois anos de níveis de soroprevalência de LVC maiores de 20%.[23]

Da mesma forma, as elevadas coberturas de eutanásia podem ser consequência das baixas coberturas dos inquéritos sorológicos. Deve-se considerar que apenas os cães que participaram dos inquéritos puderam ser avaliados e os positivos eutanasiados. Portanto, baixas coberturas do inquérito sorológico possibilitam a permanência de cães infectados no ambiente, garantindo a dinâmica de transmissão da doença.

O alto custo das ações do PNVCLV, que nem sempre considera à realidade local, leva à descontinuidade destas atividades, em especial durante epidemias de Dengue, visto que o controle da LV em geral utiliza os mesmos recursos humanos e financeiros que são administrados para o controle de outros agravos vigentes no município. Via de regra, esta concorrência pelo uso dos recursos, traz prejuízo àquela doença com menor apelo popular, no caso a LV.[21] Além do desvio de recursos, a baixa efetividade do controle do reservatório canino está relacionada com a permanência de cães positivos no ambiente. Isso ocorre por diversos fatores, como por exemplo, cães que não são avaliados; baixas coberturas dos inquéritos sorológicos; questões ligadas às características dos testes diagnósticos, que podem não detectar cães infectados durante o período de incubação da doença, resultando em falsos-negativos; tempo longo entre o diagnóstico e a eutanásia; a recusa em entregar o cão positivo

por parte dos tutores; e a reposição por suscetíveis após a eutanásia compulsória de cães positivos, garantindo a continuidade da dinâmica de transmissão.[4,6,8,17,18,19,20,21]

Contudo, apesar das baixas coberturas das medidas de controle, observou-se diminuição nas taxas de incidência da LVH e na soroprevalência de LVC, seguido por um período de estabilidade, o mesmo padrão de ocorrência de casos humanos foi observado para o estado de São Paulo.[24] Embora a estratificação epidemiológica proposta pelo MS, classifique Araçatuba como área de transmissão intensa (áreas com média de casos humanos superior a 4,4), esta classificação tem sido criticada por levar em consideração o número absoluto de casos independentemente do tamanho da população, o que pode mascarar a real dinâmica de transmissão da LVH. Neste caso, a avaliação incluindo a incidência poderia ser mais adequada.[1,2,3,5]

Uma das formas de se verificar a efetividade das ações de controle é a partir da diminuição da doença entre crianças, uma vez que esse é o grupo de maior incidência.[1,2,3,8] Apesar de não ter sido observado diferença por faixa etária no percentual de diminuição da taxa de incidência comparando os dois períodos de estudo, a queda na taxa foi considerável, 79% tanto na faixa de 0 a 19 anos quanto no total de indivíduos, o que pode ser uma sinalização de que mesmo em baixas coberturas a eutanásia de cães positivos estaria auxiliando no controle da transmissão.

O uso de dados secundários e de notificação passiva, com a provável ocorrência de subnotificação, são limitações do presente estudo. Os dados desagregados sobre as atividades de controle coletados estavam arquivados em forma de papéis, foi preciso digitalizar todas as informações em planilhas de excel. Não foram encontrados, nem junto a SUCEN nem com o CCZ, dados anteriores a 2007, impossibilitando verificar se as atividades de controle em períodos anteriores tiveram influência na ocorrência da doença humana. Da mesma forma, a falta de relação entre a LHV, a soroprevalência e as medidas de controle observada no modelo ecológico pode ser consequência da unidade de análise utilizada (“setores SUCEN”, a mesma usada por gestores do programa de controle). O número limitado das amostras dificultou a observação da relação espacial, no período de 2010 a 2015, entre a LHV e a soroprevalência de LVC. Outra limitação deste estudo foi não terem sido analisadas todas as medidas de controle do programa, como manejo ambiental, o tratamento dos casos humanos e a educação em saúde.

Pode-se considerar que parte destas limitações foi superada com delineamento ecológico, o uso de sistemas de informação geográfica e de análise espacial, que auxiliaram na compreensão da dinâmica de transmissão da doença. Vários autores têm apontado sua importância na identificação de áreas prioritárias e avaliação da efetividade de medidas de vigilância e controle.[4,17,18,19,25,26]

O controle químico é, na teoria, uma estratégia efetiva contra doenças transmitidas por vetores, porém sua efetividade é comprometida por questões relacionadas com operacionalização e manutenção desta medida. Por isso, para se alcançar o controle vetorial é necessário um conjunto de ações contínuas que envolvam treinamento periódico de agentes de saúde, participação da comunidade, manejo ambiental e as questões operacionais devem ser monitoradas e avaliadas regularmente afim de se evitar interrupções dessas ações de controle.[6,7] Quanto a estratégia de inquérito sorológico canino e eutanásia dos positivos, apesar de simples do ponto de vista conceitual, na prática, envolve muitos desafios, como já citados, contudo, alguns estudos apontam para a possibilidade de se alcançar o controle da LV, mesmo em baixas coberturas, caso essa estratégia seja realizada com continuidade e regularidade.[27,28,29]

Este estudo reafirmou a relação entre doença humana e canina, verificou a diminuição das taxas de LVH e LVC, mesmo mediante baixas coberturas das medidas de controle. Dessa forma, o controle da LV parece estar pautado na sociedade, por menores que sejam as ações realizadas, como o desenvolvimento de ações de educação e saúde, posse responsável, manejo ambiental e medidas de prevenção e controle individuais como o uso de coleiras impregnadas com inseticidas, a vacinação e o tratamento de cães, estas podem estar relacionadas com algum grau de diminuição na ocorrência de casos de LVH.[30] Assim, são necessários novos estudos para averiguar a influência dessas ações em conjunto no controle da transmissão da doença.

REFERÊNCIAS

1. Secretaria de Estado da Saúde (SP), Superintendência de Controle de Endemias - SUCEN e Coordenadoria de Controle de Doenças - CCD. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral Americana do Estado de São Paulo. São Paulo; 2006 [citado 2017 Maio 25]. Disponível em: ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/zoo/lva06_manual.pdf

2. Ministério da Saúde (BR), Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Brasília (DF); 2014 [citado 2017 maio 25]. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmaniose_visceral_1edicao.pdf

3. Ministério da Saúde (BR), Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. Guia de Vigilância em Saúde: [recurso eletrônico]. Brasília; 2016. p 521- 542. [citado 2017 jan 10]. Disponível em:

http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_saude_1ed_atual.pdf

4. Teixeira-Neto RG, da Silva ES, Nascimento RA, Belo VS, de Oliveira CDL, Pinheiro LC, et al. Canine visceral leishmaniasis in an urban setting of southeastern Brazil: an ecological study involving spatial analysis. *Parasit Vectors*. 2014; 7:485. https://doi.org/10.1186/s13071-014-0485-7

5. Cardim MFM, Rodas LA, Dibo MR, Guirado MM, Oliveira AM, Neto, FC. Introduction and expansion of human American visceral leishmaniasis in the state of Sao Paulo, Brazil, 1999–2011. *Rev. Saude Publica*. 2013; 47(4):691–700. http://dx.doi.org/10.1590/S0034-8910.2013047004454

6. Werneck GL. Visceral leishmaniasis in Brazil: rationale and concerns related to reservoir control. *Rev Saude Publica*. 2014; 48(5):851-855. http://dx.doi.org/10.1590/S0034-8910.2014048005615

7. Salomón OD, Feliciangeli MD, Quintana MG, Afontos MMS, Rangel EF. Lutzomyia longipalpis urbanisation and control. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 2015; 110(7):831–846. http://dx.doi.org/10.1590/0074-02760150207

8. Vieira CP, Oliveira AM, Rodas LAC, Dibo MR, Guirado MM, Chiaravalloti Neto F. Temporal, spatial and spatiotemporal analysis of the occurrence of visceral leishmaniasis in humans in the City of Birigui, State of São Paulo, from 1999 to 2012. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2014;47(3):350-358. http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0047-2014

9. SINAN. Sistema de Informação de Agravos de Notificação. Casos confirmados por Ano Notificação segundo Município de residência 350280 Araçatuba, 2007-2015. Ministério da

Saúde. Scretaria de Vigilância em Saúde. [citado 2017 jan 10]. Disponível em: http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/leishvsp.def

10. IBGE. [citado 2017 jan 10]. Disponível em: https://cidades.ibge.gov.br/v4/brasil/sp/aracatuba/panorama

11. Quantum GIS Development Team, 2016. Quantum GIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. [citado 2017 jan 10]. Disponível em: http://qgis.osgeo.org

12. Nunes CM, Martines DA, Fikaris S, Queiroz LH. Avaliação da População Canina da Zona Urbana do Município de Araçatuba, São Paulo. *Rev Saude Publica*.1997;31(3):308-309. http://dx.doi.org/10.1590/S0034891019970003000013

13. TerraView 4.2.2. São José dos Campos, SP: INPE, 2013. [citado 2017 jan 10]. Disponível em: www.dpi.inpe.br/terraview

14. Zuur AF, Leno EN, Elphick CS. A protocol for data exploration to avoid common statistical problems. *Methods in Ecology and Evolution*. 2010; 1:3–14. DOI: 10.1111/j.2041-210X.2009.00001.x

15. Akaike, H. Information theory as an extension of the maximum likelihood principle. In: Second International Symposium on Information Theory (B.N.Petrov & F.Csaki, eds), Akademiai Kiado, Budapest; 1973. p. 267–281.

16. Ripley BD. Spatial statistics. New York: John Wiley & Sons; 1981.

17. Teles APS, Herrera HM, Ayres FM, Brazuna JCM, Abreu UGP. Fatores de Risco Associados à Ocorrência da Leishmaniose Visceral na Área Urbana do Município de Campo Grande/MS. *Hygeia: Rev. Bras Geo Med Saúde*. 2015;11(21):35-48

18. Ursine RL, Dias JVL, Morais HA, Pires HHR. Human and canine visceral leishmaniasis in an emerging focus in Araçuaí, Minas Gerais: spatial distribution and socio-environmental factors. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 2016;111(8):505-511. http://dx.doi.org/10.1590/0074-02760160133

19. Campos R, Santos M, Tunon G, Cunha L, Magalhães L, Moraes J, et al. Epidemiological aspects and spatial distribution of human and canine visceral leishmaniasis in an endemic area

in northeastern Brazil. *Geospatial Health*. 2017;12(1):67-73. http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612014008

20. Morais MHF, Fiuza VOP, Araújo VEM, Menezes FC, Carneiro M. Avaliação das atividades de controle da leishmaniose visceral em Belo Horizonte, Minas Gerais, 2006-2011. *Epidemiol. Serv. Saude*. 2015;24(3):485-496. http://dx.doi.org/10.5123/S1679-49742015000300014

21. Zuben APBV & Donalísio MR. Dificuldades na execução das diretrizes do Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral em grandes municípios brasileiros. *Cad. Saude Publica*. 2016; 32(6):e00087415. http://dx.doi.org/10.1590/0102311X00087415

22. Oliveira CL, Morais MHF, Machado-Coelho GLL. Visceral leishmaniasis in large Brazilian cities: challenges for control. *Cad Saude Publica* 2008, 24:2953–2958. http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2008001200026

23. Rosales JC & Yang HM. Modelagem matemática do fator de risco da leishmaniose canina na leishmaniose humana em regiões oeste do Estado de São Paulo, Brasil, e noroeste da província de Salta, Argentina. *BEPA* 2006, ISSN, 1806, 4272.

24. Schweiger MCC, Freitas YM, Alves AJS, Kuroda RBS, Souza VAF. Análise de aglomerado espaço-temporal da leishmaniose visceral americana no estado de São Paulo, 2011 – 2015. *ASA*. 2016, 4:61-67.

25. Oliveira AM, Vieira CP, Dibo MR, Guirado MM, Rodas LAC, Chiaravalloti Neto F. Dispersal of Lutzomyia longipalpis and expansion of canine and humanvisceral leishmaniasis in São Paulo State, Brazil. *Acta Tropica*. 2016;164 (2016):233–242. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.09.014

26. Szklo M, and Nieto J. Epidemiology: Beyond the Basics. Jones & Bartlett Publishers; 2014.

27. Costa DNCC, Codeço CT, Silva MA, Werneck GL. Culling dogs in scenarios of imperfect control: realistic impact on the prevalence of canine visceral leishmaniasis. PLoS Negl Trop Dis. 2013;7(8):e2355. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002355

28. Morais, MHF. Avaliação das atividades de controle da leishmaniose visceral na Regional Noroeste de Belo Horizonte, 2006 a 2010 [Tese de doutorado]. [Minas Gerais]: Universidade Federal de Minas Gerais; 2011. 191 p.

29. Oliveira, SS. Avaliação de estratégia otimizada para triagem e eliminação de cães no controle da leishmaniose visceral humana. [Tese de doutorado]. [Salvador]: Fundação Oswaldo Cruz; 2011. 112 p.

30. Sevá AP, Ovallos FG, Amaku M, Carrillo E, Moreno J, Galati EA, et al. Canine-based strategies for prevention and control of visceral leishmaniasis in Brazil. *PloS one*. 2016; 11(7):e0160058. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160058

FIGURAS

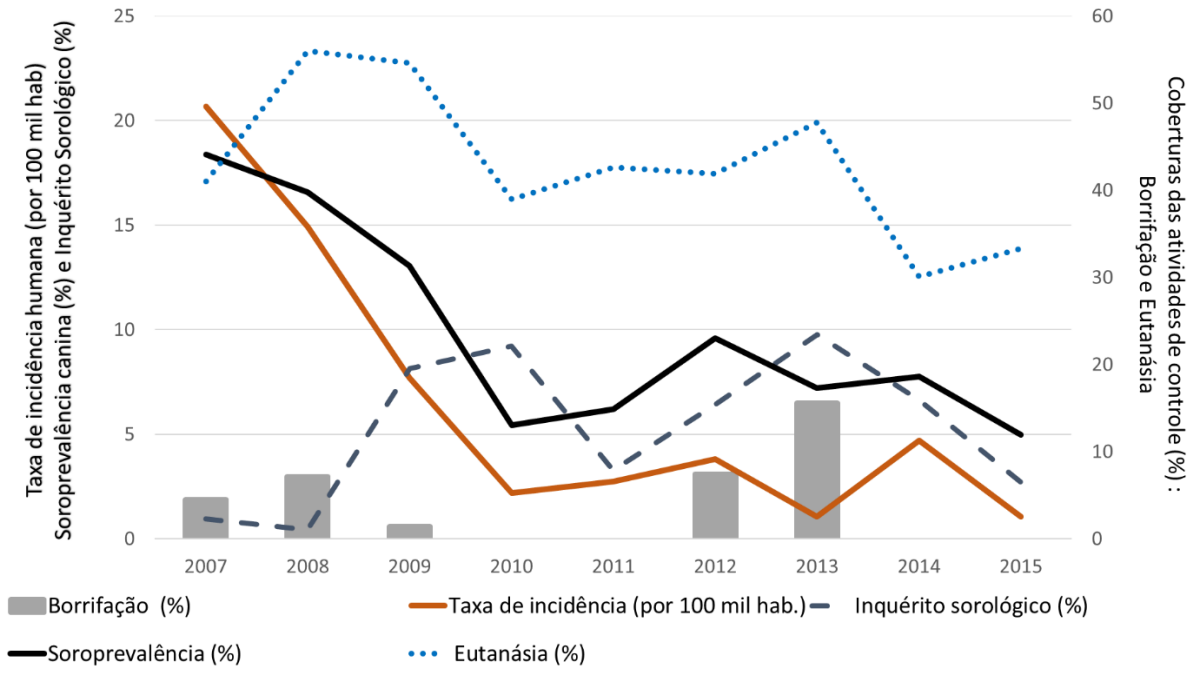


Figura 1. Taxas de incidência por leishmaniose visceral (LV) humana (por 100 mil hab.), soropositividade canina (%) e coberturas das atividades de controle da LV: borrifação de inseticidas (%), inquérito sorológico (%) e eutanásia (%), segundo ano de estudo. Município de Araçatuba-SP, Brasil, 2007 a 2015.

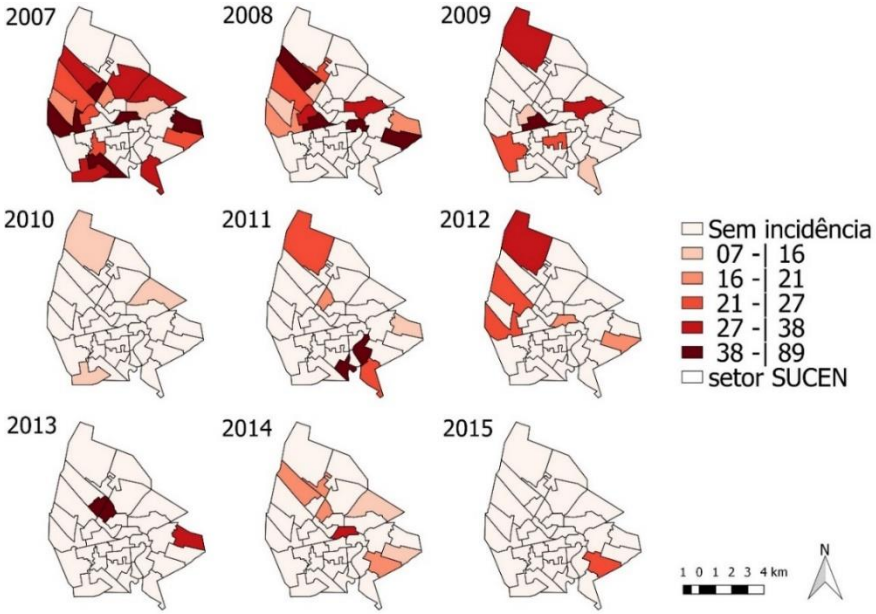


Figura 2. Mapas das distribuições das taxas de incidência de LVH (por 100 mil hab.) segundo "setor SUCEN". Área urbana de Araçatuba- SP, 2007 a 2015.

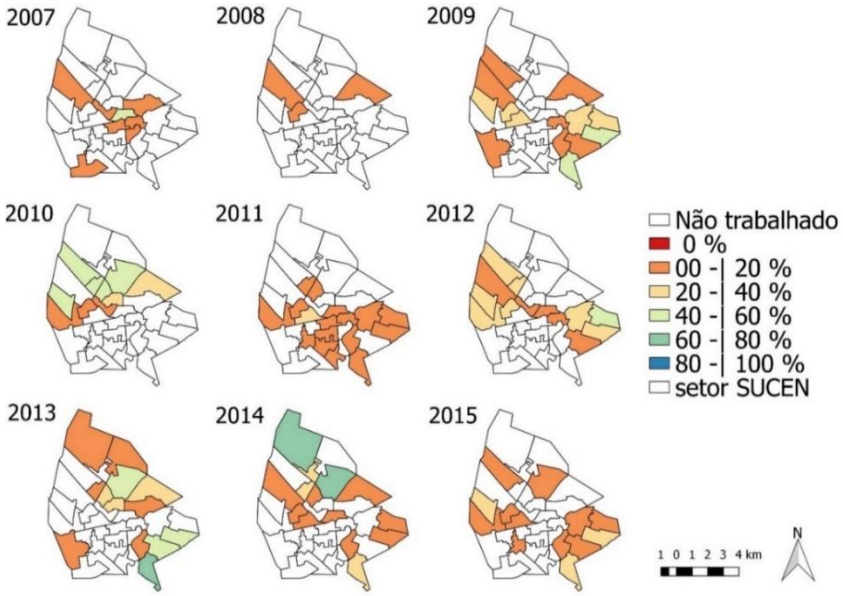


Figura 3. Mapas das distribuições das coberturas do inquérito sorológico canino, segundo "setor SUCEN". Área urbana de Araçatuba- SP, 2007 a 2015.

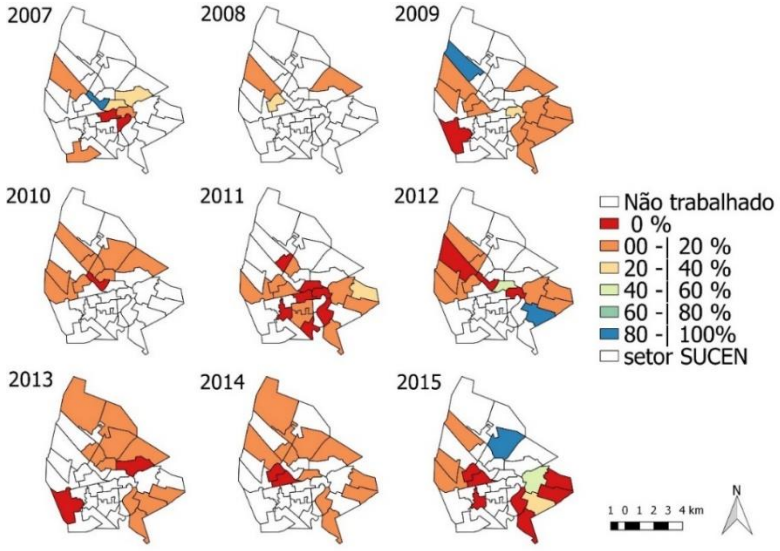


Figura 4. Mapas das distribuições da soropositividade canina para LV, segundo "setor SUCEN". Área urbana de Araçatuba – SP, 2007 a 2015.

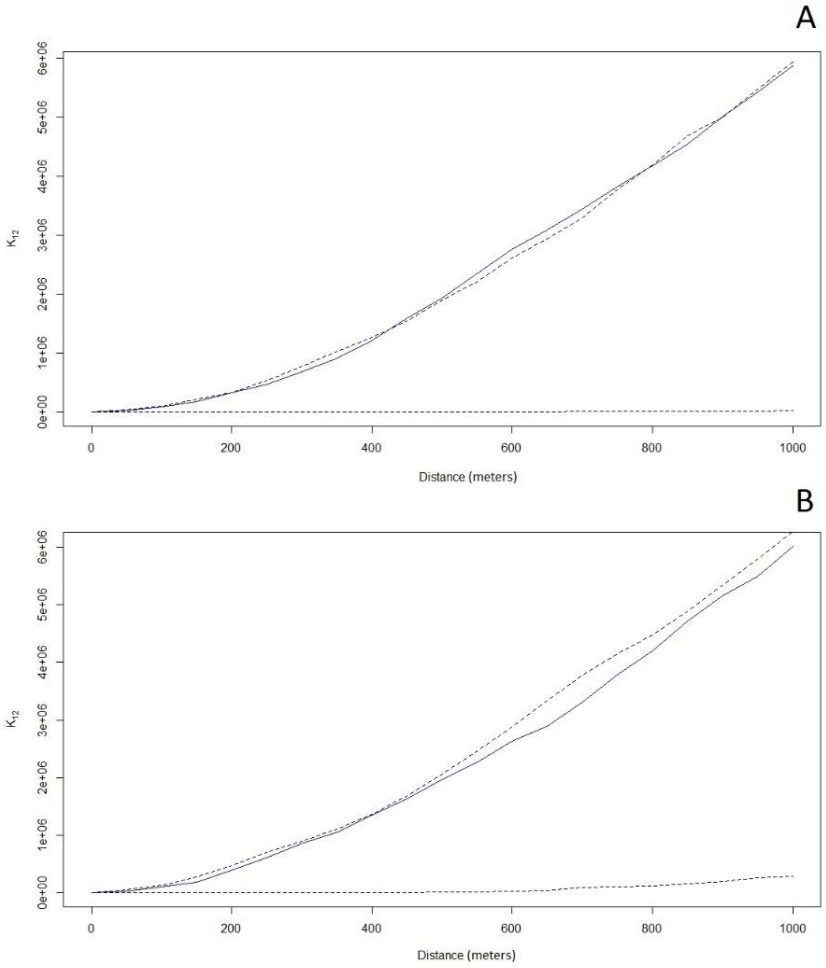


Figura 5. Gráficos das distribuições de dependência espacial entre leishmaniose visceral humana em relação à canina, segundo análise bivariada por meio da função K de Ripley. Município de Araçatuba-SP, 2007 a 2009 (A) e 2010 a 2015 (B).

4.2 RESULTADO REFERENTE AO OBJETIVO II

Artigo publicado pela Revista BMC Veterinary Research. Este manuscrito atende ao segundo objetivo desta tese. O artigo foi traduzido para o português a fim de se adequar as regras de elaboração de teses do programa de pós-graduação ao qual esta tese será submetida. O comprovante de aceite encontra-se no ANEXO VI.

Costa DNCC, Blangiardo M, Rodas LAC, Nunes CM, Hiramoto RM, Tolezano JE, et al. **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 veterinary research, 2018; 14(1): 229. https://doi.org/10.1186/s12917-018-1550-9

Resumo

Introdução: A incidência de leishmaniose visceral (LV), considerada uma das mais importantes doenças negligenciadas no mundo, está aumentando no Brasil. Nosso objetivo foi determinar a soroprevalência da LV canina (LVC) em área urbana do município de Araçatuba e avaliar sua relação com as características dos cães e de seus tutores. **Métodos:** Foi realizado um estudo transversal entre 2015 e 2016, a partir de um inquérito sorológico canino. Amostras de sangue foram coletadas para a identificação de cães soropositivos/negativos, e foram obtidas informações sobre os cães e seus donos. A soroprevalência da LVC foi modelada por regressão logística em uma abordagem geoestatística usando a metodologia "Integrated Nested Laplace Approximation (INLA)" para inferência bayesiana. O componente espacial foi modelado por um campo Gaussiano (GF, Gaussian field), usando uma abordagem de equações diferenciais parciais estocásticas. **Resultados:** A soroprevalência da LVC na área de estudo foi de 0,081 (intervalo de confiança de 95% [IC]: 0,068-0,096). As seguintes covariáveis/categorias foram positivamente associadas à ocorrência de um cão soropositivo: Ter mais de 10 cães vivendo no domicílio (razão de chances [OR] = 2,36; IC95%: 1,03–5,43) (valor de referência: 0-10 cães); domicílio com histórico de cães que morreram previamente devido a LVC (OR = 4,85; IC95%: 2,65-8,86) ou morreram por outras causas não naturais (não relacionadas com questões referentes a idade avançada) (OR = 2,26; IC95%: 1,12-4,46) (valor de referência: natural ou nenhuma morte); cães que permaneciam em quintal protegido ao longo do dia (OR = 2,14; IC 95%: 1,05-4,40); cães que permaneciam em quintal desprotegido ou na rua ao longo do dia (OR = 2,67; IC95%: 1,28–5,57) (valor de referência: cães que permaneciam dentro de casa ao longo do

dia). Foi observada uma dependência espacial entre as observações de cerca de 45,7 m. **Conclusões:** O número de cães por domicílio, mortes prévias por LVC ou outras causas não naturais e o local de permanência do cão durante o dia foram características associadas à ocorrência de um cão soropositivo para LV. O encontro de dependência espacial em pequenas distâncias pode estar relacionado às características do vetor, produzindo um padrão local entorno dos domicílios de transmissão da LV. A abordagem geoestatística em um contexto bayesiano utilizando o INLA permitiu identificar as covariáveis associadas à LV, incluindo seu padrão de transmissão espacialmente dependente.

Palavras-chave: Leishmaniose visceral; cães; estudo transversal; análise geoestatística; Brasil

Abstract

Background: The incidence of visceral leishmaniasis (VL), one of the most important neglected diseases worldwide, is increasing in Brazil. The objectives of this study were to determine the canine VL (CanL) seroprevalence in an urban area of Araçatuba municipality and to evaluate its relationship with the characteristics of dogs and their owners. **Results**: The CanL seroprevalence in the study area was 0.081 (95% credible interval [CI]: 0.068–0.096). The following covariates/categories were positively associated with the occurrence of a seropositive dog: more than 10 dogs that had lived in the house (odds ratio [OR] = 2.36; 95% CI: 1.03–5.43) (baseline: 0–10 dogs); house with dogs that previously died of VL (OR = 4.85; 95% CI: 2.65–8.86) or died of causes other than old age (OR = 2.26; 95% CI: 1.12–4.46) (baseline: natural or no deaths); dogs that spent the day in a sheltered backyard (OR = 2.14; 95% CI: 1.05–4.40); dogs that spent the day in an unsheltered backyard or the street (OR = 2.67; 95% CI: 1.28–5.57) (baseline: inside home). Spatial dependence among observations occurred within about 45.7 m. **Conclusions**: The number of dogs that had lived in the house, previous deaths by VL or other cause, and the place the dog stayed during the day were associated with the occurrence of a VL seropositive dog. The short-distance spatial dependence could be related to the vector characteristics, producing a local neighbourhood

VL transmission pattern. The geostatistical approach in a Bayesian context using integrated nested Laplace approximation (INLA) allowed to identify the covariates associated with VL, including its spatially dependent transmission pattern.

Keywords: Visceral leishmaniasis; dogs; cross-sectional study; geostatistical analysis; Brazil

Introdução

A leishmaniose visceral (LV) é listada como uma doença tropical negligenciada e é considerada um problema de saúde pública em todo o mundo. Em 2014, o Brasil foi um dos seis países apontados pela Organização Mundial de Saúde, nos quais foram relatados mais de 90% dos casos dessa doença [1]. Apesar das estratégias de controle implementadas, a incidência de LV continua alta em muitos países da América Latina. Desde a década de 1980, até aquele momento conhecida como uma doença endêmica rural, a LV se tornou endêmica e epidêmica nas grandes cidades brasileiras, representando um grande problema de saúde pública [2, 3]. No Brasil, o principal vetor é *Lu. longipalpis*, estando bem adaptado para áreas urbanas [4]. A maioria dos fatores que podem estar associados à LV está relacionada à exposição ao vetor, como ocupação urbana desordenada, destruição ambiental, falta de saneamento, condições de moradia, presença de galinheiros e proximidade a áreas de vegetação densa [5, 6, 7]. E na presença do vetor, o cão doméstico é o principal reservatório em áreas urbanas [5].

Os achados relacionados à epidemiologia da LV apontam para uma correlação espacial entre a ocorrência de doenças em humanos e altas taxas de infecção em cães, sugerindo que a LVC seja um fator chave para desencadear a transmissão em humanos [8, 9]. Assim, além do diagnóstico e tratamento de casos humanos, a redução da população de flebótomos e atividades de educação em saúde, o controle da LV se concentra na eliminação do reservatório canino, porém, está é uma estratégia controversa. Devido à importância do cão doméstico na dinâmica da transmissão da LV, é necessário compreender os fatores de risco para LVC e desenvolver medidas de controle mais efetivas.

Em um estudo de meta-análise, Belo et al. [3] selecionaram 36 estudos sobre os fatores de risco para LVC e observaram associações dessa doença com características dos cães como, idade, sexo masculino, pelo curto, raças puras (em comparação com cães sem raça definida), restrição de permanência no peridomicílio (em comparação com cães restritos ao interior do domicílio) e presença de áreas verdes no entorno dos domicílios. No entanto, ainda existem

lacunas no conhecimento dos fatores de risco para o LVC, requerendo o desenvolvimento de estudos que aprofundem esse tipo de entendimento, gerando informações para a melhora das atividades de controle da LV [3].

O quadro epidemiológico da LV envolve o vetor, o reservatório canino e o homem, todos com diferentes capacidades de dispersão e movimento; portanto, os processos envolvidos nessa infecção são espacialmente dependentes. Assim, estudos para identificar os determinantes envolvidos em sua dinâmica de transmissão precisam incorporar o espaço como um componente relacionado ao movimento das entidades envolvidas. Além disso, a contabilização da autocorrelação espacial dos fenômenos estudados produzirá estimativas mais precisas [10]. Até onde sabemos, nenhuma investigação levou em conta a dimensão espacial no estudo das características dos cães e seus donos como fatores de risco para o LVC no Brasil.

O estudo foi desenvolvido em Araçatuba, por ser o primeiro município do estado de São Paulo a verificar a presença do vetor [11] e o primeiro a confirmar casos autóctones de LV humana, em 1999, um ano após o registro de casos caninos [12]. Desde então, a doença tornou-se endêmica em Araçatuba e tem desempenhado importante papel na disseminação da doença para municípios e regiões vizinhas [13]. Assim, os objetivos deste estudo foram calcular a soroprevalência da LVC em área urbana de Araçatuba e avaliar sua relação com as características dos cães e de seus tutores.

Métodos

Tipo, área e período de estudo

Foi desenvolvido um estudo transversal em Araçatuba no período de setembro de 2015 a abril de 2016. Araçatuba está localizada na região noroeste do estado de São Paulo (21°11'50” Sul, 50°25'52” Oeste). Tem temperatura média anual de 23 ° C, precipitação anual acumulada de 1229,5 mm e população estimada de 194.874 habitantes [14]. O estudo foi desenvolvido na zona urbana, na área com maior incidência de doença humana. Esta região foi definida com base em um estudo anterior que identifica grupos de alto risco de LV humana [dados não publicados]. Na seleção da área a ser estudada também foi considerado o primeiro censo sorológico canino desenvolvido em Araçatuba em 1999, após a identificação dos primeiros casos autóctones de LV. Assim, a área de estudo também faz parte da região que foi identificada com as maiores soroprevalências nesse primeiro censo sorológico [15].

A Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN) da Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo (SSESP) é o órgão responsável pelo desenvolvimento das atividades de vigilância e controle da LV no estado de São Paulo. A SUCEN divide a área urbana de

Araçatuba em 36 setores (denominados como setores SUCEN). A área de estudo foi composta por oito setores da SUCEN (Figura 1).

População do estudo

A área de estudo foi composta por 878 quadras, 24.750 domicílios e 41.012 habitantes, segundo dados da SUCEN. Foi utilizada a razão de 1 cão para 5 habitantes estimada por Nunes [16] para Araçatuba para calcular a população canina do estudo em 8.200 indivíduos, com média de 9,3 cães por quadra. Obteve-se um tamanho amostral de 1800 cães para estimar a soroprevalência da LVC. Para calcular esse número, foi usado um intervalo de confiança de 95% (IC), uma soroprevalência esperada de 5% e uma precisão de 1%. Esse tamanho de amostra foi aumentado para 2300 cães, pois foi considerado o encontro de 20% de casas fechadas e/ou falta de cooperação durante as visitas. Foi selecionado aleatoriamente 250 quadras da área de estudo para obter o tamanho da amostra. Todos os domicílios nas quadras selecionadas foram visitados para identificar aqueles com a presença de cães. Em cada um deles, foi feito contato com os tutores dos cães para explicar os objetivos da pesquisa e a apresentação do termo de consentimento livre e esclarecido. Incluímos o domicílio e o (s) cão (s) na pesquisa depois que os tutores concordaram e assinaram o termo de consentimento informado.

Coleta de dados

A pesquisa foi desenvolvida em colaboração com o Centro de Controle de Zoonoses de Araçatuba (CCZ). Duas equipes de pesquisa foram criadas, cada uma composta por agentes de endemia do CCZ, um entrevistador e um veterinário, contratados com recursos do projeto de pesquisa. Antes do início do trabalho, os membros da equipe foram treinados para abordar os tutores, preencher o questionário, realizar o exame clínico e coleta das amostras de sangue dos cães. O desenvolvimento desta pesquisa em conjunto com o CCZ permitiu o desencadeamento de medidas de controle resultantes da identificação de cães soropositivos para LV.

Após a inclusão do domicílio e de cada um dos cães residentes na pesquisa, foi atribuído um número de identificação a cada cão (DOG.ID). Um questionário foi preenchido para cada cão usando informações dos tutores, foram coletadas informações sobre o endereço da residência, questões relacionadas às características e hábitos dos cães e características de seus tutores e domicílios. O questionário também incluiu informações derivadas do exame clínico do cão conduzidas pelo veterinário no momento da coleta de sangue. O estudo de meta-análise de Belo et al. [3] foi utilizado para compor o questionário sobre as características dos cães e seus donos.

Uma amostra contendo 3 ml de sangue obtida por punção da veia cefálica, safena ou jugular, de cada cão cadastrado, foi coletada com uma seringa descartável, evitando-se hemólise. O sangue foi cuidadosamente transferido para um tubo de vidro a vácuo, no qual o número de identificação do cão foi previamente anotado. Este foi mantido à temperatura ambiente até o coágulo ser removido e armazenado num recipiente de isopor contendo gelo. Amostras de sangue foram coletadas no CCZ, onde foram examinadas pelo teste TR-DPP®-Bio-Manguinhos (DPP). Este teste é usado por SSESP como um teste de triagem para a soropositivida de LVC [17, 18]. Amostras com resultado positivo neste primeiro teste foram encaminhadas ao Instituto Adolfo Lutz de Araçatuba para confirmação do diagnóstico positivo. Lá, foi usado um ensaio imunoenzimático (ELISA) para confirmação do resultado, como recomendado por SSESP [17, 18].

Os resultados dos dois testes foram registrados para cada cão em seu questionário, com base em seu número de identificação. O CCZ utilizou as informações dos exames clínicos para definir os procedimentos a serem adotados na confirmação da soropositividade canina.

Variáveis

A soropositividade canina para LV (POS) foi a variável dependente do estudo (Tabela 1). Os cães que apresentaram resultado positivo nos dois testes diagnósticos foram considerados soropositivos [17, 18] e os cães que apresentaram resultados negativos no teste de triagem foram considerados soronegativos. As variáveis independentes (covariáveis) consideradas no estudo, assim como seus tipos e suas categorias, quando qualitativas, são apresentadas na Tabela 1.

As informações fornecidas nos questionários foram inseridas em uma planilha do Excel, de modo que cada cão pertencente à amostra correspondesse a uma linha da planilha. Os endereços das residências foram padronizados e geocodificados com base no mapa de ruas de Aracatuba através do programa TerraView (INPE 2017). Uma vez que os endereços foram geocodificados, para cada cão, suas respectivas coordenadas geográficas foram obtidas na UTM Zone 22S e Datum SIRGAS 2000 (Tabela 1).

Tabela 1 - Variáveis coletadas por inquérito sorológico para leishmaniose visceral canina realizada em Araçatuba/SP - Brasil, 2015-2016.

Abreviações	Significados	Caracterização da variável ou categorias
DOG.ID	Número de identificação	Alfanumérico

Diagnóstico		
DPP	Teste de triagem	0: negativo; 1: positivo
ELISA	Teste confirmatório	0: não se aplica; 1: negativo; 2: positivo
POS	Soropositividade canina para LV	0: IgG negativo (seronegativo); 1: IgG positivo (seropositivo)
Características dos cães e domicílios		
COORDX	Longitude (SIRGAS 2000)	Contínuo (graus)
COORDY	Latitude (SIRGAS 2000)	Contínuo (graus)
TIME	Tempo de permanência na casa atual	Contínuo (meses)
RESID	Número de domicílios	Contável
ROOM	Número de cômodos	Contável
CHICK	Presença de galinheiro no domicílio	0: não; 1: sim
N.CHICK	Presença de galinheiro na vizinhança	0: não; 1: sim
YARD	Presença de quintal no domicílio	0: não; 1: sim
PARK	Parques ou áreas verdes na vizinhança	0: não; 1: sim
N°DOGS	Número de cães no domicílio	0: 0-10; 1: + 10
DIED	Causa da morte de cães anteriormente residentes no domicílio	0: não ou por velhice*; 1: por LVC; 2: Outras razões
Covariáveis relativas aos cães		
SEX	Sexo do cão	0: fêmea; 1: macho
AGE	Idade do cão	Contínuo (meses)
HAIR	Tamanho do pelo do cão	0: longo; 1: curto
SIZE	Porte do cão	0: pequeno ou médio; 1: grande
WHERE	Onde o cão permanece durante o dia	0: dentro do domicílio; 1: em abrigo no quintal; 2: no quintal sem abrigo ou na rua
WALK	Se o cão passeia	0: não; 1: sim

NIGHT	Onde o cão permanece durante a noite	0: dentro do domicílio; 1: em abrigo no quintal; 2: no quintal sem abrigo ou na rua
ADOPT	Se o cão foi adotado da rua	0: não; 1: sim

* O cão morreu naturalmente por uma doença associada ao envelhecimento.

Análise de dados

Em primeiro lugar, foi realizada uma análise exploratória das covariáveis, para avaliar sua colinearidade, para calcular a porcentagem de dados faltantes e para identificar possíveis outliers. Gráficos de pontos (dot plot charts) foram utilizados para procurar valores aberrantes, enquanto a colinearidade entre as covariáveis foi avaliada usando o fator de inflação da variância (VIF: variance inflation factor), considerando VIF <3.00 como ponto de corte [20].

Foram identificadas as covariáveis com dados faltantes e assumiu-se que a falta ocorreu ao acaso. Na imputação de dados faltantes foi usado a imputação multivariada por método de equações encadeadas [21]. Este procedimento foi realizado utilizando-se o "*mice*" no programa R versão 3.2.3 [22].

Posteriormente, a soropositividade do cão para LV (soropositivo/seronegativo) (POS) foi modelada usando-se uma distribuição de probabilidade de Bernoulli (equações 1, 2 e 3) em um contexto bayesiano:

$POS_i = B(\pi_i)$ (1),

$E(POS_i) = \pi_i$ (2),

$logit(\pi_i) = \alpha + \sum_{p=1}^{p} \beta_p x_{pi} + W(s_i)$ (3),

onde i = 1, ..., N representa a ID de um cão em particular; π_i = probabilidade de um cão ser soropositivo para LV; α = intercepto; β_p = vetor de parâmetros de regressão; x_{pi} = matriz de covariáveis; s_i = coordenadas geográficas da localização residencial do cão; e W (s_i) = efeitos aleatórios estruturados espacialmente. W (s_i) é a realização de um campo Gaussiano (GF, Gaussian field) estacionário e latente que modela a dependência espacial relacionada à localização dos cães (coordenadas geográficas):

$W \sim MVN(0, \Sigma)$

A função de covariância espacial de Matérn [23] foi utilizada para modelar a matriz de covariância espacialmente estruturada, usando a distância euclidiana entre as localizações

geográficas dos cães. A função de covariância espacialmente estruturada foi modelada usando-se a equação diferencial parcial estocástica (SPDE: stochastic partial differential equation) e um campo aleatório Gaussiano Markoviano (GMRF: Gaussian Markov random field) para representar o GF [24].

Inferências foram feitas em um contexto bayesiano usando a abordagem INLA (Integrated Nested Laplace Approximation ou Aproximações de Laplace aninhadas integradas) [25]. Para isso, foi utilizado o programa R e a biblioteca R-INLA (www.r-inla.org). Em primeiro lugar, foram obtidos os cinco conjuntos de dados imputados usando "*mice*". Em seguida, realizou-se uma modelagem incluindo intercepto, covariáveis e a componente espacial para cada banco de dados imputado. As estimativas obtidas foram combinadas usando-se as regras de Rubin [26]. Este modelo foi denominado modelo de covariável espacial de dados imputados, sendo considerado o modelo final.

Com o intuito comparar possível modelos, foram criados 1) um modelo incluindo o intercepto, as covariáveis e a componente espacial para o conjunto de dados completo, isto é, para os dados sem imputação (modelo de covariável espacial para os dados completos); 2) um modelo básico com apenas o intercepto e a componente espacial (modelo espacial de intercepto) para avaliar a importância das covariáveis na explicação da correlação espacial; 3) um modelo sem a componente espacial usando os conjuntos de dados imputados (modelo de covariável não espacial para os dados imputado). Os modelos foram comparados através do "Deviance Information Criterion" (DIC) [10]. Médias posteriores dos efeitos fixos e os respectivos intervalos de credibilidade de 95% (95% CI), foram apresentados para todos os modelos, tanto na escala logit (betas) e escala natural (odds ratio).

Resultados

Um total de 1403 cães foram incluídos no estudo e testados para LV, após o qual 7 tiveram resultados sorológicos inconclusivos. Dos 1396 cães com resultados sorológicos conclusivos, 113 foram positivos para LV, correspondendo a uma soroprevalência de 0,081 (IC 95%: 0,068-0,096). Os cães caracterizados por LV positivos e negativos são apresentados na Figura 1C. As Tabelas 2 e 3 descrevem a distribuição do status de soropositividade para LV de acordo com as covariáveis associadas aos tutores e com as características dos cães, respectivamente. Destas, fica claro que, com exceção do SEX, todas as covariáveis apresentaram dados faltantes (NA). As covariáveis N.CHICK e N°DOGS destacaram-se com dados faltantes de, respectivamente, 12,5% e 17,6%. A análise exploratória não mostrou

outliers ou colinearidade entre as covariáveis. A análise VIF mostrou valores menores que 1,6 para todas as covariáveis.

Tabela 2 – Distribuição da soropositividade para IgG canina para leishmaniose visceral, de acordo com as características dos domicílios, Araçatuba, Br, 2015-2016. NA = dados faltantes.

*Covariável	Categoria	IgG negativo		IgG positivo		Total (1396;100%)	
		n	%**	n	%**	n	%***
TIME (meses)	0 até <150	500	92.3	42	7.7	542	38.8
	150 até < 300	394	92.5	32	7.5	426	30.5
	300 e+	378	90.9	38	9.1	416	29.8
	NA	11	91.7	1	8.3	12	0.9
RESID	1 ou 2	438	92.8	34	7.2	472	33.8
	3 ou 4	636	92.0	55	8.0	691	49.5
	5 e+	195	89.4	23	10.6	218	15.6
	NA	14	93.3	1	6.7	15	1.1
ROOM	1 até 5	465	92.4	38	7.6	503	36.0
	6 ou 7	475	91.7	43	8.3	518	37.1
	8 e+	321	91.5	30	8.5	351	25.2
	NA	22	91.7	2	8.3	24	1.7
CHICK	Não	1196	92.2	101	7.8	1297	92.9
	Sim	74	87.1	11	12.9	85	6.1
	NA	13	92.9	1	7.1	14	1.0
N.CHICK	Não	681	91.5	63	8.5	744	53.3
	Sim	440	92.2	37	7.8	477	34.2
	NA	162	92.6	13	7.4	175	12.5
YARD	Não	755	92.9	58	7.1	813	58.2
	Sim	504	90.5	53	9.5	557	39.9
	NA	24	92.3	2	7.7	26	1.9
PARK	Não	342	92.4	28	7.6	370	26.5
	Sim	875	91.7	79	8.3	954	68.3
	NA	66	91.7	6	8.3	72	5.2
N°DOGS	0 até 10	990	92.6	78	7.4	1068	76.5
	Mais de 10	68	82.1	15	17.9	83	5.9
	NA	225	91.9	20	8.1	245	17.6
DIED	Não ou por	856	94.7	48	5.3	904	64.8

	velhice						
	LV	148	88.1	20	11.9	168	12.0
	Outras razões	176	81.5	40	18.5	216	15.5
	NA	103	95.4	5	4.6	108	7.7

* Descrição na Tabela 1; ** porcentagens de linha; *** porcentagens de coluna

Tabela 3 – Distribuição da soropositividade para IgG canina para leishmaniose visceral, de acordo com as características dos cães, Araçatuba, Br, 2015-2016. NA = dados faltantes.

*Covariável	Categoria	IgG negativo		IgG positivo		Total (1396;100%)	
		n	%**	n	%**	n	%***
SEX	Fêmea	761	92.9	58	7.1	819	58.7
	Macho	522	90.5	55	9.5	577	41.3
AGE (meses)	< 48	506	92.5	41	7.5	547	39.2
	48 até < 96	448	92.4	37	7.6	485	34.7
	96 e+	262	90.7	27	9.3	289	20.7
	NA	67	89.3	8	10.7	75	5.4
HAIR	Longo	283	94.7	16	5.3	299	21.4
	Curto	939	91.0	91	9.0	1030	73.8
	NA	61	89.7	6	10.3	67	4.8
SIZE	Pequeno ou médio	1042	92.3	87	7.7	1129	80.9
	Grande	149	88.2	20	11.8	169	12.1
	NA	92	93.9	6	6.1	98	7.0
WHERE	Dentro do domicílio	385	95.8	17	4.2	402	28.8
	Abrigo no quintal	489	91.2	47	8.8	536	38.4
	No quintal sem abrigo ou na rua	303	87.1	45	12.9	348	24.9
	NA	106	96.4	4	3.6	110	7.9
WALK	Não	532	90.1	57	9.9	589	41.2
	Sim	661	92.7	52	7.3	713	51.1
	NA	90	94.3	4	5.7	94	6.7
NIGHT	Dentro do domicílio	163	97.6	4	2.4	167	12.0
	Abrigo no quintal	789	91.6	72	8.4	861	61.7
	No quintal sem abrigo ou na rua	223	87.1	33	12.9	256	18.3
	NA	108	96.4	4	3.6	112	8.0
ADOPT	Não	1058	91.6	97	8.4	1155	82.7

	Sim	97	89.0	12	11.0	109	7.8
	NA	128	97.0	4	3.0	132	9.5

* Descrição na Tabela 1; ** porcentagens de linha; *** porcentagens de coluna

A Tabela 4 apresenta as médias posteriores dos efeitos fixos na escala natural (odds ratio [OR]) e o IC 95% do modelo de covariância espacial imputável do conjunto de dados (modelo final). Este modelo mostrou que, entre as covariáveis consideradas e suas respectivas categorias, as seguintes estavam positivamente associadas à presença de um cão soropositivo para LV: Ter mais de 10 cães vivendo no domicílio (valor de referência: 0 a 10); cães que permaneciam em quintal protegido ao longo do dia; cães que permaneciam em quintal desprotegido ou na rua ao longo do dia (valor de referência: dentro da casa); e domicílio com histórico de cães que morreram previamente devido a LVC ou morreram por outras causas não naturais (não relacionadas com questões referentes a idade avançada) (valor de referência: natural ou nenhuma morte). A figura adicional 1 mostra os resultados da combinação das estimativas separadas obtidas para cada um dos cinco bancos de dados imputados que produziram o modelo final.

Tabela 4 – Medias posteriores dos efeitos fixos com IC 95%, apresentados como odds ratios (OR), do modelo final (modelo de covariância espacial imputada do conjunto de dados), Araçatuba, SP, Br, 2015-2016.

Covariáveis (Acrônimo)	Categoria (código)	Modelo final		
		OR	95%CI	
			Quantil 0.025	Quantil 0.975
Intercepto		0.01	0.00	0.02
Covariáveis relativas aos cães, seus tutores e seus domicílios				
TIME (padronizado)		0.98	0.78	1.24
RESID (padronizado)		1.00	0.79	1.26
ROOM (padronizado)		1.15	0.92	1.47
CHICK	Não (0)	1		
	Sim (1)	1.98	0.86	4.59
N.CHIK	Não (0)	1		
	Sim (1)	0.69	0.39	1.21
YARD	Sem quintal ou acimentado (0)	1		
	Grama no quintal (1)	1.02	0.61	1.70
PARK	Não (0)	1		

	Sim (1)	0.82	0.48	1.39
N°DOGS	0 até 10 (0)	1		
	Mais de 10 (1)	2.36	1.03	5.43
DIED	Não ou por velhice (0)	1		
	Sim, LV (1)	4.85	2.65	8.86
	Sim, outras razões (2)	2.26	1.12	4.46
Covariáveis relativas as características dos cães				
SEX	Fêmea (0)	1		
	Macho (1)	1.36	0.88	2.11
AGE (padronizado)		1.16	0.92	1.47
HAIR	Longo (0)	1		
	Curto (1)	1.42	0.77	2.65
SIZE	Pequeno ou médio (0)	1		
	Grande (1)	1.07	0.55	2.10
WHERE	Dentro do domicílio (0)	1		
	Abrigo no quintal (1)	2.14	1.05	4.40
	No quintal sem abrigo ou na rua (2)	2.67	1.28	5.57
WALK	Não (0)	1		
	Sim (1)	0.90	0.56	1.44
NIGHT	Dentro do domicílio (0)	1		
	Abrigo no quintal (1)	2.19	0.67	7.16
	No quintal sem abrigo ou na rua (2)	2.62	0.74	9.27
ADOPT	Não (0)	1		
	Sim (1)	0.80	0.34	1.91

A estrutura espacial do modelo final foi avaliada considerando os cinco bancos de dados imputados. A correlação espacial deste modelo variou de 44,1 a 48,9 m com mediana de 45,7 m. As Figuras 2 e 3 apresentam os valores do campo aleatório espacial para toda a grade e a distribuição pontual dos domicílios dos cães, respectivamente. O campo aleatório espacial não apresentou distribuição uniforme na área de estudo, variando de negativo a positivo. Isso mostrou que a probabilidade de ocorrência de um cão soropositivo não foi aleatória. No entanto, essa dependência espacial foi limitada a uma pequena vizinhança dos domicílios dos

cães: a distância em que a dependência espacial estava presente era de apenas cerca de 45,7 m.

A figura Adicional 2 compara os resultados das estimativas obtidas a partir do modelo de covariância espacial do conjunto de dados completos e do modelo de covariância espacial de conjunto de dados imputado (modelo final). Para o primeiro, foram considerados apenas os cães com informação completa para todas as covariáveis, reduzindo assim o tamanho inicial da amostra para 743 cães. Em geral, as médias posteriores dos efeitos fixos do modelo final foram mais próximas de 0 (hipótese nula: Beta = 0) do que os efeitos fixos do modelo com dados completos. Todos os efeitos fixos do modelo final apresentaram um IC de 95% mais estreito do que no modelo com dados não imputados.

Foi obtido um alcance igual a 50,0 m a partir do modelo espacial de intercepto. Isso foi apenas um pouco maior que o intervalo do modelo final, mostrando que a dependência espacial presente nos dados foi pouco explicada pelas covariáveis consideradas.

A figura Adicional 3 compara os resultados do modelo de covariância não espacial do conjunto de dados imputado e o modelo de covariância espacial do conjunto de dados imputado (modelo final). Não houve muita diferença entre esses dois modelos, mas ressalta-se que residir em um domicílio com abrigo no quintal, categoria da covariável WHERE, passou de um resultado não significativo para um resultado significativo no modelo final. A figura adicional 4 apresenta os valores de DIC de todos os modelos ajustados. Os modelos incluindo o componente espacial apresentaram menor DIC que os modelos sem o componente espacial em todos os casos, mostrando melhor qualidade de ajuste.

Discussão

No Brasil, podem ser observadas grandes flutuações nos valores de soroprevalência da LVC, variando de 4% a 75%, dependendo das condições geográficas, do clima e dos aspectos sociais de cada região afetada [17, 27]. O primeiro levantamento censitário canino realizado em Araçatuba em 1999, logo após a identificação da autoctonia para LV em humanos, encontrou, na área do presente estudo, uma soroprevalência entre 7,9 e 25,9% [15]. E Nunes et al. [28] encontraram soroprevalência de 30,6% em um bairro de Araçatuba em 2002. Assim, a prevalência de 8,1% encontrada neste estudo pode ser considerada moderada a baixa em relação a outros valores encontrados em cidades brasileiras e em relação aos encontrados no primeiro levantamento realizado no canino Araçatuba.

Tanto os fatores associados como os não associados à LVC, entre todos os examinados, são discutidos, conforme segue. A presença de mais de um cão no domicílio foi associada ao aumento na probabilidade de adquirir a infecção, resultado consistente com os de outros

estudos. Maior número de cães no domicílio, tanto no passado como o presente, está relacionado a maior disponibilidade de fontes de alimentação para os vetores, facilitando a manutenção da infecção entre os cães. Indiretamente, um maior número de cães também pode ser uma indicação de menos cuidados dedicados a cada um deles [3, 29, 30].

A ocorrência prévia de morte relacionada a doença canina ou morte por outra razão que não velhice também foi associada à ocorrência de novos casos de LVC, resultado também verificado por outros estudos [3, 31]. Silva et al. [31], por exemplo, descobriram que em Teresina, no estado do Piauí, famílias com história de pelo menos um cão soropositivo coletado pelo programa de controle de LV nos 12 meses anteriores eram mais propensas a ter outro cão doente do que aquelas sem histórico de cão removido. As hipóteses para a causa dessa associação são a substituição de cães suscetíveis e a persistência de condições favoráveis para a transmissão da LVC no domicílio. Andrade et al. [32] observaram, em Araçatuba, uma substituição de 38,8% dos cães eutanasiados e que os proprietários não desenvolveram medidas preventivas contra a LVC, mesmo após a eutanásia dos cães.

A associação entre a morte de cães por outros motivos e a LVC pode estar relacionada à falta de cuidados gerais do cão, o que seria uma indicação de comportamento adequado para o desenvolvimento de condições que pudessem levar à ocorrência da doença. Outras hipóteses explicativas são morte por LV não diagnosticada devido a moradia se encontrar fechada ou recusa do morador em participar durante os levantamentos censitários caninos, ou falhas relacionadas aos testes diagnósticos [33].

Foi identificada uma associação positiva entre cães que permanecem no peridomicílio (quintais e adjacências) e maior soropositividade para LV, o que concorda com os resultados de outros estudos [3, 29, 34]. Este seria um ambiente favorável para o contato de cães com flebótomos infectados. Nunes et al. [28] mostraram, em estudo desenvolvido em um bairro de Araçatuba, que alguns dos proprietários não sabiam da existência do vetor. Entre aqueles que sabiam de sua existência, muitos não adotaram medidas preventivas.

Embora respostas afirmativas às covariáveis YARD, PARK e ADOPT correspondessem a maiores soroprevalências para a LVC, elas perderam importância no modelo final após o ajuste para outras covariáveis, especialmente WHERE. Essa covariável, embora não colinear com YARD, PARK e ADOPT, tem em comum informações sobre a permanência do cão no quintal ou na rua, o que favoreceria o contato do cão com o vetor [3, 29, 34].

Uma situação semelhante ocorreu para a covariável NIGHT. A permanência no peridomicílio à noite apresentou maiores valores de soroprevalência para o LVC do que a resposta negativa a essa questão. Depois de controlar as outras covariáveis, especialmente

para WHERE, isso também perdeu importância. Embora não seja colinear, NIGHT está relacionado a WHERE, e pode-se afirmar que um cão que permaneça no peridomicílio durante o dia teria maior probabilidade de permanecer nesse ambiente à noite.

Segundo Belo et al. [3], um dos principais fatores de risco relacionados às características dos cães é o comprimento do pelo. Cães com pelo curto ficariam mais expostos a picadas de vetores porque terem uma superfície de contato maior e produzirem mais CO2, atraindo mais vetores do que cães com pelos longos. Neste estudo, a soroprevalência da LV foi maior para cães com pelo curto do que longo, mas essa variável não foi importante quando controlada para as outras covariáveis. Mais estudos são necessários para esclarecer esta questão.

A idade e o sexo dos cães têm sido associados ao LVC, dependendo da região onde o estudo foi desenvolvido, da estrutura populacional e da metodologia utilizada na avaliação [3]. No entanto, até o momento, não há evidências de predisposição por idade ou sexo à infecção [17]. Neste estudo, não foi observada correlação entre idade e sexo com a LVC. Coura-Vital et al. [34] também não observaram associação entre sexo e a LVC.

Há relatos de maior soropositividade em cães jovens, o que tem sido relacionado à falta de imunidade e a substituição de cães eutanasiados na população, permitindo a entrada de indivíduos mais jovens e mais suscetíveis [27, 32]. Há também relatos de maior prevalência da doença em adultos. Este resultado é apoiado pela hipótese de que os filhotes são mais frequentemente criados dentro dos domicílios, de modo que a exposição de cães adultos ao vetor infectado seria maior. Outra hipótese apontada por estudos que observaram maior prevalência em cães com mais de dois anos seria o longo período de latência da infecção. Estes cães podem ter adquirido a infecção quando filhotes e só apresentam positividade para os testes diagnósticos quando adultos [3, 5, 27].

Coura-Vital et al. [34] não encontraram associação entre SIZE e LVC, coincidindo com os resultados de nosso estudo. Por outro lado, Penaforte et al. [35] encontraram tal associação e sugeriram que cães de grande porte seriam submetidos a picadas de flebotomíneos infectados, pois são usados como cães de guarda. Neste estudo foi encontrado maior soroprevalência de LVC em cães de grande porte do que em cães de pequeno e médio porte, mas a covariável SIZE perdeu importância quando controlada pelas outras variáveis, principalmente a covariável WHERE. Assim, essas duas covariáveis poderiam estar ligadas às funções desempenhadas pelos cães de grande porte, fazendo com que permaneçam no peridomicílio, favorecendo seu contato com o vetor [3, 29, 34].

Há controvérsias sobre a presença de galinheiro sendo um fator de risco para o LVC. Neste estudo não foi possível verificar essa relação, provavelmente devido à baixa frequência de

domicílios com galinheiros. Belo et al. [3], em sua meta-análise, observaram cinco estudos que apontaram para uma associação positiva com a LVC e dois com associações negativas. Por um lado, a presença de um galinheiro atrairia os flebotomíneos e aumentaria as chances dos cães serem picados. Por outro lado, o fato do vetor ter uma preferência alimentar por galinhas poderia diminuir a proporção de picadas efetivas em cães. Dados os resultados controversos, mais estudos são necessários para esclarecer essa relação [3, 5, 27].

O encontro da dependência espacial ocorrendo em pequenas distâncias ao redor do domicílio pode estar relacionado à capacidade do vetor de se adaptar aos ambientes urbanos; eles podem ser encontrados dentro e fora de casa [4, 36, 37, 38]. Além disso, pode estar relacionado ao fato do estudo ter ocorrido em área urbana, onde as distâncias entre as várias possíveis fontes de sangue e abrigos são pequenas. Ao avaliar a preferência alimentar de *Lu. longipalpis* em Araçatuba, Camargo-Neves et al. [39] indicou uma preferência de fêmeas por cães, humanos e aves, reforçando a hipótese de que aglomerados do vetor são formados perto de domicílios devido ao fornecimento de alimentos e abrigo.

O fato da estrutura da correlação espacial do modelo espacial de intercepto ser semelhante à do modelo final pode indicar que a dependência espacial do fenômeno estudado foi pouco explicada por algumas variáveis consideradas no modelo. Uma possível explicação para isso é que as variáveis consideradas na modelagem incorporaram apenas parcialmente as dimensões do vetor da doença. Assim, mais estudos devem ser realizados para investigar esse aspecto.

Uma limitação do estudo é a não resposta, com as proporções de não resposta para algumas covariáveis excedendo 10%. Esse problema teria prejudicado a análise por causa da redução do tamanho efetivo da amostra para fins de modelagem, caso não tivesse sido utilizado a imputação de dados faltantes [21]. A imputação permitiu o uso adequado das informações coletadas. As estimativas obtidas a partir dos dados imputados deslocaram-se para a hipótese nula, e os respectivos intervalos de credibilidade foram mais estreitos em relação às estimativas feitas a partir dos dados completos.

O primeiro ponto forte a ser destacado do estudo é o tamanho da amostra. Embora tenha sido inferior ao número inicialmente buscado, a soroprevalência encontrada foi maior que a esperada. Isso garantiu boa precisão para os resultados e um poder de estudo razoável. A parceria que estabelecida com o CCZ permitiu que as informações obtidas neste inquérito sorológico (testes sorológicos e informações clínicas dos cães amostrados) fossem utilizadas nas atividades de rotina do controle da LV.

Finalmente, a maior força do estudo foi o uso da análise geoestatística, que permitiu a consideração da dependência espacial do fenômeno estudado. Assim, obtivemos estimativas

controladas pelas localizações dos cães amostrados, os quais forneceram resultados mais precisos. Foram identificados seis estudos no Brasil que avaliaram o LVC considerando a dependência espacial. Cinco avaliaram a relação entre doença canina e humana [9, 40, 41, 42, 43] e um avaliou fatores associados à presença de LVC, assim como LV em humanos e vetor, em municípios do estado de São Paulo. Assim, este é o primeiro estudo realizado no Brasil que avaliou a relação da LVC com as características dos cães e seus tutores considerando a auto-correlação espacial presente no fenômeno estudado.

A importância do cão na dinâmica de transmissão da LV é bem descrita na literatura. Estima-se que a proximidade a um cão soropositivo aumenta em cinco vezes a chance de infecção humana [27]. A investigação de fatores relacionados à infecção canina é essencial para o entendimento da dinâmica da transmissão da LV e contribui para melhor direcionamento de medidas de prevenção e controle. A associação encontrada entre LVC e WHERE, N°DOGS e DIED poderia ser resumida pela associação da doença com a permanência de cães no peridomicílio e com condições favoráveis à presença do vetor nesses locais. Estas condições seriam evidenciadas pelo número de cães e a ocorrência de morte por LV canina e por outras razões além da idade avançada.

Assim, os domicílios com história de eutanásia de cães para LV ou com grande número de cães no domicílio podem receber atenção especial do órgão de controle. Essas casas poderiam ser visitadas com maior frequência para orientação sobre manejo ambiental e cuidados com os cães. A ocorrência de dependência espacial a pequenas distâncias indica que áreas próximas a essas residências também poderiam ser priorizadas para o desenvolvimento de medidas de controle.

Conclusões

Neste estudo foi encontrada uma soroprevalência de LV de 0,081 (IC 95%: 0,068-0,096) na área de estudo. Domicílios com mais de 10 cães, com histórico de cães que morreram previamente devido a LVC ou por outra razão que não a velhice, e cães que permaneciam em quintal sejam protegido, desprotegido ou na rua ao longo do foram as covariáveis associadas positivamente com a ocorrência de soropositividade As estruturas similares de correlação espacial dos modelos apenas com o intercepto e com o intercepto e as covariáveis mostraram que a dependência espacial presente nos dados foi pouco explicada pelas covariáveis consideradas no modelo. Além disso, essa dependência espacial ocorreu apenas na vizinhança próxima das casas dos cães, porque a distância sobre a qual estava presente era de menos de 50 m. A hipótese é que esses resultados podem estar relacionados a *Lu. longipalpis*, produzindo um padrão de transmissão LV na vizinhança local. Esses resultados, se

considerados pelos formuladores de políticas, poderiam ser usados para melhorar a vigilância e o controle da LV. A abordagem geoestatística em um contexto bayesiano utilizando o INLA permitiu identificar as covariáveis associadas à LV, obter resultados mais precisos e identificar facilmente seu padrão de transmissão local, considerando a dependência espacial entre as observações.

Referências

1. World Health Organization. Leishmaniasis, Epidemiological situation. 2017. http://www.who.int/leishmaniasis/burden/en/. Accessed 20 Jan 2018.
2. Werneck GL. Expansão geográfica da leishmaniose visceral no Brasil. Cad Saude Publica. 2010. 26:644-5. Doi: http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2010000400001.
3. Belo VS, Struchiner CJ, Werneck GL, Barbosa DS, de Oliveira RB, Neto RGT, et al. A systematic review and meta-analysis of the factors associated with Leishmania infantum infection in dogs in Brazil. Vet Parasitol 2013;195:1–13. Doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.03.010.
4. Oliveira EF, Silva EA, Casaril AE, Fernandes CES, Filho AP, Gamarra RM, et al. Behavioral aspects of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in urban area endemic for visceral leishmaniasis. J Med Entomol. 2013; 50(2): 277-84.
5. Belo VS, Werneck GL, Barbosa DS, Simões TC, Nascimento BWL, da Silva ES, et al. Factors associated with visceral leishmaniasis in the Americas: a systematic review and meta-analysis. PLoS Negl Trop Dis. 2013; 7:4. Doi: http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0002182.
6. Alvar J, Yactayo S, Bern C. Leishmaniasis and poverty. Trends Parasitol. 2006;22(12):552-7. Doi: https://doi.org/10.1016/j.pt.2006.09.004.
7. Figueiredo ABF, Werneck GL, Pires e Cruz, MDS, Silva JPD, Almeida ASD. Land use, land cover, and prevalence of canine visceral leishmaniasis in Teresina, Piauí State, Brazil: an approach using orbital remote sensing. Cad. Saúde Pública. 2017. Doi: http://dx.doi.org/10.1590/0102-311x00093516.
8. Rosales JC, Yang HM. Modelagem matemática do fator de risco da leishmaniose canina na leishmaniose humana em regiões oeste do Estado de São Paulo, Brasil, e noroeste da província de Salta, Argentina. Bepa. 2006; ISSN 1806:4272. http://www.ime.unicamp.br/~hyunyang/publications/paper/2006_bepa_rosales.pdf. Accessed 20 Jan 2018.
9. Teixeira-Neto RG, da Silva ES, Nascimento RA, Belo VS, de Oliveira CDL, Pinheiro LC, et al. Canine visceral leishmaniasis in an urban setting of southeastern Brazil: an

ecological study involving spatial analysis. Parasit Vectors. 2014; 7:485. Doi: https://doi.org/10.1186/s13071-014-0485-7.

10. Blangiardo M, Cameletti M. Spatial and Spatio-Temporal Bayesian Models with R-INLA. Chichester: John Wiley and Sons; 2015.
11. Costa AIP, Casanova C, Rodas LAC, Galati EAB. Atualização da distribuição geográfica e primeiro encontro de Lutzomyia longipalpis em área urbana no Estado de São Paulo, Brasil. Rev Saude Publica. 1997; 31:632-3. Doi: http://dx.doi.org/10.1590/S0034-89101997000700012.
12. Casanova C, Colla-Jacques FE, Hamilton JGC, Brazil RP, Shaw JJ. Distribution of Lutzomyia longipalpis chemotype populations in São Paulo State, Brazil. PLoS Negl Trop Dis. 2015; 9:3. Doi: https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003620
13. Cardim MFM, Rodas LA, Dibo MR, Guirado MM, Oliveira AM, Neto FC. Introduction and expansion of human American visceral leishmaniasis in the state of Sao Paulo, Brazil, 1999–2011. Rev. Saude Publica. 2013; 47(4):691–700. Doi: http://dx.doi.org/10.1590/S0034-8910.2013047004454.
14. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Cidades, Panorama. 2018. https://cidades.ibge.gov.br/v4/brasil/sp/aracatuba/panorama. Accessed 20 Jan 2018.
15. Camargo-Neves VLF, Katz G, Rodas LAC, Poletto DW, Lage CL, Spínola RMF et. al. Use of spatial analysis tools in the epidemiological surveillance of American visceral leishmaniasis, Araçatuba, São Paulo, Brazil, 1998-1999. Cad Saude Publica 2001;17(5):1263-7.
16. Nunes CM, Martines DA, Fikaris S, Queiroz LH. Avaliação da População Canina da Zona Urbana do Município de Araçatuba, São Paulo. Rev Saude Publica. 1997;31(3):308-9.
17. Ministério da Saúde. Guia de Vigilância em Saúde. Brasília. 2016. http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_saude_1ed_atual.pdf. Accessed 10 Jan 2017.
18. Secretaria de Estado da Saúde. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral Americana do Estado de São Paulo. São Paulo; 2006 ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/zoo/lva06_manual.pdf. Accessed 25 Jan 2017.
19. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. TerraView 4.2.2. 2017. http://www.dpi.inpe.br/terraview. Accessed 5 Jun 2017.
20. Zuur AF, Ieno EN, Elphick CS. A protocol for data exploration to avoid common statistical problems. Methods Ecol Evol. 2010; 1:3-14. Doi: http://dx.doi.org/0.1111/j.2041-210X.2009.00001.x.

21. Buuren S, Groothuis-Oudshoorn K. Mice: Multivariate imputation by chained equation in R. J Stat Softw. 2011;45(3):1-67. Doi: http://dx.doi.org/10.18637/jss.v045.i03.

22. R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing, Vienna, Austria 2017. https://www.r-project.org/. Accessed 5 Jun 2017.

23. Cressie N. Statistics for spatial data. New York: Wiley; 1993.

24. Lindgren F, Rue H, Lindström J. An explicit link between Gaussian fields and Gaussian Markov random fields: the stochastic partial differentiation approach. J R Stat Soc. 2011; B73(4):423–98. Doi: http://dx.doi.org/10.1111/j.1467-9868.2011.00777.x.

25. Rue H, Martino S, Chopin N. Approximate Bayesian inference for latent Gaussian models by using integrated nested Laplace approximations. J Roy Stat Soc B. 2009;71(2):319–92. DOI: http://dx.doi.org/10.1111/j.1467-9868.2008.00700.x.

26. Rubin DB. Multiple Imputation for Nonresponse in Surveys. John Wiley & Sons, New York, 1987.

27. Marcondes M, Nazaretian CR. Leishmaniose visceral no Brasil. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. 2013; 50(5): 341-52. Doi: http://dx.doi.org/10.11606/issn.2318-3659.v50i5p341-352.

28. Nunes CM, Lima VMF, Paula HB, Perri SHV, Andrade AM, Dias FEF et al. Dog culling and replacement in an area endemic for visceral leishmaniasis in Brazil. Vet Parasitol 2008;153:19-23. Doi: https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.01.005.

29. Amora SSA, Santos MJP, Alves ND, Costa SCG, Calabrese KS, Monteiro AJ, et al. Fatores relacionados com a positividade de cães para leishmaniose visceral em área endêmica do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. Cienc. Rural. 2006; 36: 1854–9. Doi: http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782006000600029.

30. Abrantes TR, Werneck GL, Almeida AS, Figueiredo FB. Environmental factors associated with canine visceral leishmaniasis in an area with recent introduction of the disease in the State of Rio de Janeiro, Brazil. Cad Saúde Pública 2018;34(1):e00021117. Doi: http://dx.doi.org/10.1590/0102-311X00021117.

31. Silva JP, Werneck GL, Macedo EC, Carvalho H, Cruz MSP. Factors associated with Leishmania chagasi infection in domestic dogs from Teresina, State of Piauí, Brazil. Rev Soc Bras Med Trop 2012;45(4):480-4.

32. Andrade AM, Queiroz LH, Perri SHV, Nunes CM. Estudo descritivo da estrutura populacional canina da área urbana de Araçatuba, São Paulo, Brasil, no período de 1994 a 2004. Cad Saúde Pública 2008;24(4):927-32.

33. Mendonça ILD, Batista JF, Werneck GL, Soares MRA, Costa DL, Costa CHN. Serological tests fail to discriminate dogs with visceral leishmaniasis that transmit Leishmania infantum to the vector Lutzomyia longipalpis. Rev Soc Bras Med Trop. 2017;50(4):483-8. Doi: http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0014-2017.

34. Coura-Vital W, Marques MJ, Veloso VM, Roatt BM, Aguiar-Soares RDO, Reis LES, et al. Prevalence and factors associated with Leishmania infantum infection of dogs from an urban area of Brazil as identified by molecular methods. PLoS Negl. Trop. Dis. 2011;5:8. Doi: https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001291.

35. Penaforte KM, Belo VS, Teixeira-Neto RG, Ribeiro RAN, Oliviera RB, Schettini DA et al. *Leishmania* infection in a population of dogs: an epidemiological investigation relating to visceral leishmaniasis control. Rev Bras Parasitol Vet 2013;22(4):592-6.

36. Rangel O, Sampaio SMP, Ciaravolo RMC, Holcman MM. The distribution pattern of Lutzomyia longipalpis (Diptera: Psychodidae) in the peridomiciles of a sector with canine and human visceral leishmaniasis transmission in the municipality of Dracena, São Paulo, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2012;107(2):163-9. Doi: http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762012000200003.

37. Costa PL, Dantas-torres F, Silva FJ, Guimarães VCFV, Gaudêncio K, Brandão-filho SP. Ecology of Lutzomyia longipalpis in na área of visceral leishmaniasis transmission in north-eastern Brazil. Acta Tropica. 2013; 126(2): 99-102. Doi: https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.01.011.

38. Holcman MM, Sampaio SMP, Rangel O, Casanova C. Spatial and seasonal distribution of Lutzomyia longipalpis in Dracena, a city in the western region of the State of São Paulo, Brazil, that is endemic with visceral leishmaniasis. Rev Soc Bras Med Trop 2013;46(6):704-12. Doi: 10.1590/0037-8682-0188-2013.

39. Camargo-Neves VLF, Rodas LAC, Gomes AC. Avaliação do hábito alimentar de Lutzomyia longipalpis no estado de São Paulo. Bepa. 2007;4(39):2-7.

40. Lorenzo-Oliveira CD, Assunção RM, Reis IA, Proietti FA. Spatial distribution of human and canine visceral leishmaniasis in Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brasil, 1994-1997. Cad Saúde Pública 2001;17(5):1231-9.

41. Margorari C, Freitas CR, Ribeiro RC, Moura ACM, Timbó M, Gripp AH, et al. Epidemiology of visceral leishmaniasis through spatial analysis, in Belo Horizonte municipality, state of Minas Gerais, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 2006;101(1):31-8. Doi: http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762006000100007.

42. Barbosa DS, Belo VS, Rangel MES, Werneck GL. Spatial analysis for identification of priority areas for surveillanceand control in a visceral leishmaniasis endemic area in Brazil. Acta Trop 2014;131:56-62. Doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.12.002.

43. Menezes JA, Ferreira ED, Andrade-Filho JD, Sousa AM, Morais MHG, Rocha MAS et al. An Integrated Approach Using Spatial Analysis to Study the Risk Factors for Leishmaniasis in Area of Recent Transmission. BioMed Res Int 2015;621854. Doi: http://dx.doi.org/10.1155/2015/621854.

Anexos

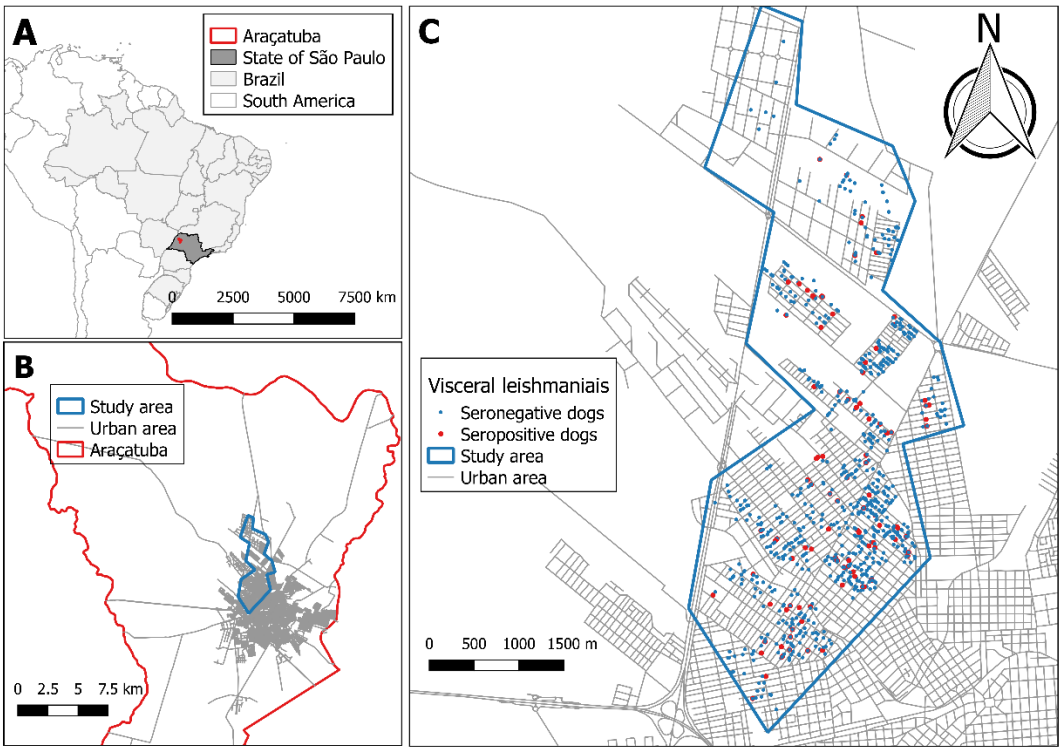


Figura 1 – Município de Araçatuba, estado de São Paulo, Brasil (A); Área de estudo na área urbana de Araçatuba (B); Cães soropositivos e soronegativos para leishmaniose visceral na área de estudo (C).

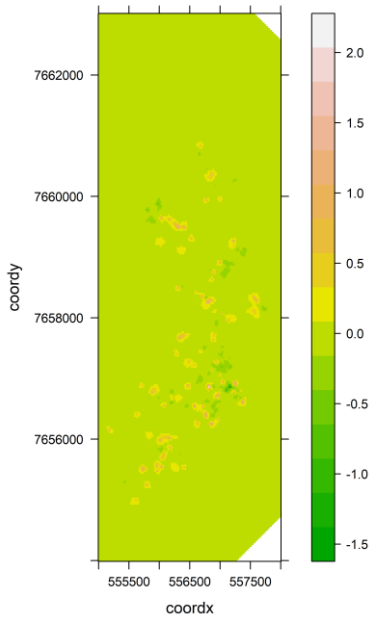


Figura 2 – Média do campo aleatório espacial para toda a malha, Araçatuba, SP, Brasil, 2015-2016.

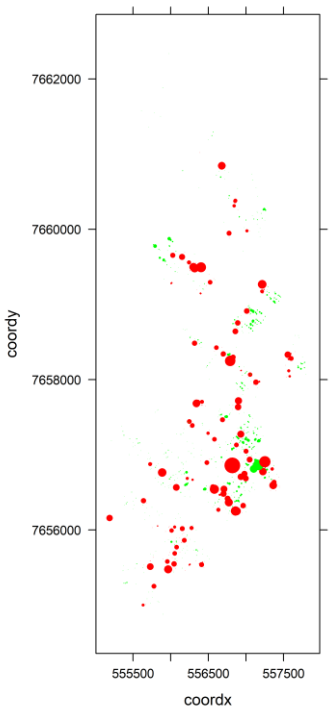


Figura 3 - Médias posteriores do campo aleatório espacial para todas as coordenadas dos domicílios dos cães: a cor vermelha representa valores positivos e verdes, valores negativos; Araçatuba, SP, Brasil, 2015-2016.

Figura adicional 1 – Combinação das estimativas separadas obtidas a partir dos cinco bancos de dados imputados para o modelo final (modelo imputável de covariáveis espaciais de dados), Araçatuba, SP, Br, 2015-2016.

Covariáveis (acronym)	Beta[1]	Var[2]	B[3]	Var.tt[4]	R[5]	Df[6]	Se.tt[7]	t-95%[8]	95%CI[9]	
									Baixo	Alto
Intercepto	-5.116	0.496	0.001	0.497	0.002	1389	0.705	1.962	-6.499	-3.733
TIME	-0.017	0.014	0.000	0.014	0.010	1335	0.118	1.962	-0.249	0.215
RESID	-0.005	0.014	0.000	0.014	0.025	1132	0.118	1.962	-0.237	0.227
ROOM	0.141	0.013	0.000	0.013	0.022	1182	0.114	1.962	-0.083	0.365
CHICK	0.686	0.179	0.003	0.183	0.023	1168	0.428	1.962	-0.154	1.525
N.CHICK	-0.371	0.067	0.011	0.081	0.200	128	0.285	1.979	-0.934	0.193
YARD	0.022	0.063	0.003	0.067	0.066	585	0.259	1.964	-0.487	0.530
PARK	-0.197	0.073	0.000	0.073	0.008	1354	0.270	1.962	-0.727	0.333
N°DOGS	0.859	0.177	0.003	0.180	0.020	1203	0.424	1.962	0.027	1.692
DIED-1	1.579	0.088	0.005	0.094	0.074	508	0.307	1.965	0.976	2.181
DIED-2	0.816	0.113	0.012	0.127	0.129	246	0.356	1.970	0.114	1.518
WHERE-1	0.763	0.129	0.004	0.134	0.039	905	0.366	1.963	0.044	1.481
WHERE-2	0.981	0.140	0.001	0.141	0.006	1370	0.375	1.962	0.244	1.718
WALK	-0.105	0.056	0.002	0.058	0.036	963	0.241	1.962	-0.578	0.367
NIGHT-1	0.786	0.360	0.003	0.363	0.009	1348	0.602	1.962	-0.396	1.968
NIGHT-2	0.965	0.408	0.005	0.414	0.015	1280	0.643	1.962	-0.298	2.227
SEX	0.309	0.050	0.000	0.050	0.011	1320	0.224	1.962	-0.130	0.748
AGE	0.152	0.013	0.001	0.014	0.061	626	0.118	1.964	-0.080	0.384
HARI	0.354	0.093	0.006	0.100	0.083	443	0.316	1.965	-0.268	0.975
SIZE	0.072	0.099	0.014	0.115	0.165	170	0.339	1.974	-0.598	0.741
ADOPT	-0.217	0.170	0.019	0.193	0.130	242	0.439	1.970	-1.083	0.648

1 - Beta: mean of betas of a specific covariate obtained for the five models (each one corresponding to one of the five imputed database obtained); 2 - Var: mean of the respective variances; 3 - B: between imputation variance; 4 - Var.tt: the total variance of the pooled estimated (mean variance + B); 5 - R: relative increase in variance due to nonresponse (B/Mean variance); 6 - Df: degrees of freedom for t of Student (reference) distribution; 7 - Se.tt: total standard error (square root of the total variance); 8 – t-95%: 95% t of Student value; 9 - Lower and Upper 95% CI limits: 0.025 and 0.0975 quantiles considering the t Student distribution for the correspondent degrees of freedom (Df).

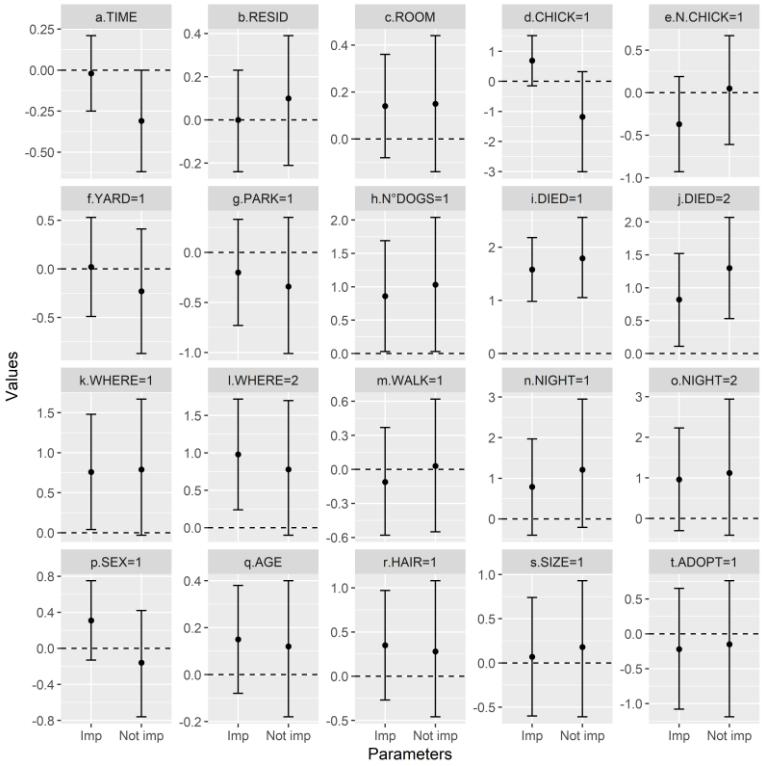


Figura adicional 2 – Posterior means fixed effects and 95% CI, in the logit scale (betas), of the final model (imputed dataset spatial covariate model) (Imp) and the complete dataset spatial covariate model (Not imp), Araçatuba, SP, Br, 2015-2016.

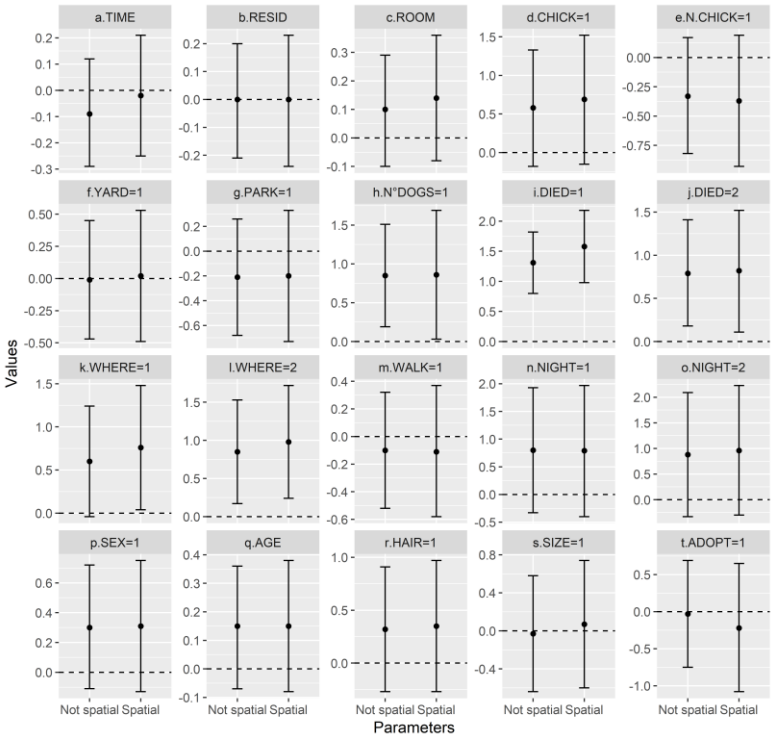


Figura adicional 3 – Posterior means fixed effects and 95% CI, in the logit scale (betas), of the final model (imputed dataset spatial covariate model) (Spatial) and the imputed dataset non-spatial covariate model (Not spatial), Araçatuba, SP, Br, 2015-2016.

Figura adicional 4 – “Deviance Information Criterion” (DIC) dos modelos rodados, Araçatuba, SP, Br, 2015-2016.

Modelo	Intercepto	Intercepto e covariáveis					
		Banco de dados completos	Cinco bancos de dados (DB)				
			DB1	DB2	DB3	DB4	DB5
Componente sem espaço	786.8	430.4	747.1	755.4	749.7	753.4	749.9
Componente com espaço	754.1	425.5	711.1	714.9	710.5	713.7	711.3

4.3 RESULTADO REFERENTE AO OBJETIVO III

Manuscrito não submetido à publicação e que atende ao terceiro objetivo. Este manuscrito foi elaborado com base nas regras de submissão do Cadernos de Saúde Pública da Fundação Oswaldo Cruz.

Título: Efeito da eutanásia de cães soropositivos no controle da leishmaniose visceral canina

Título resumido: Controle da leishmaniose visceral canina

Danielle Nunes Carneiro Castro Costa[1], Cláudia Torres Codeço[2], Patricia Marques Moralejo Bermudi[1], Lilian Aparecida Colebrusco Rodas[3], Cáris Maroni Nunes[4], Roberto Mitsuyoshi Hiramoto[5], José Eduardo Tolezano[5], Francisco Chiaravalloti-Neto[6]

1 – Programa de Pós-graduação em Saúde Pública, Faculdade de Saúde Pública, USP, Avenida Doutor Arnaldo 715, São Paulo, 01246-904, SP, Brazil. Tel: +55 11 30617000.

2 – Programa de Computação Científica, Fundação Oswaldo Cruz, Avenida Brasil 4365, Antiga Residência Oficial, Rio de Janeiro, 21045-900, RJ, Brazil. Tel: +55 21 38361107.

3 – Serviço Regional 9. Superintendência de Controle de Endemias. Rua Minas Gerais, 135, Araçatuba, 15015160, SP, Brazil. Tel: +55 18 3623-4595.

4 – Unesp. Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular, Departamento de Apoio Produção e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba. Rua Clóvis Pestana 793, Araçatuba, 16050-680, SP, Brazil. Tel: +55 18 36361366.

5 – Núcleo de Parasitoses Sistêmicas, Instituto Adolfo Lutz, Av. Doutor Arnaldo 355, 8o. Andar, São Paulo, 01246-000, SP, Brazil. Tel: +55 11 30682891.

6 – Departamento de Epidemiologia, Faculdade de Saúde Pública, USP, Avenida Doutor Arnaldo 715, São Paulo, 01246-904, SP, Brazil. Tel: +55 11 30617920.

RESUMO

A leishmaniose visceral é uma doença emergente e negligenciada em processo de expansão em áreas urbanas. A incidência da doença humana está relacionada com a infecção canina. Uma das principais estratégias de controle atualmente empregadas é a eutanásia de cães, estratégia está cuja efetividade tem sido questionada. Araçatuba e Birigui são municípios do estado de São Paulo, Brasil, com soroprevalência canina de 8 a 10%, que aplicam as estratégias de controle voltadas ao reservatório canino baseado em inquérito sorológico e eutanásia dos cães soropositivos. Usando dados do programa de controle destes municípios

para parametrizar modelo dinâmico, esse estudo avaliou o efeito destas atividades. Considerando-se controle contínuo e um esforço das atividades de inquérito sorológico três vezes maior que a média do observado em Araçatuba e duas vezes maior em Birigui, as atividades relacionadas à eutanásia de cães com diagnóstico de LV possibilitariam, em teoria, o controle da infecção canina. No entanto, se a única estratégia utilizada no controle do reservatório canino for o inquérito sorológico, seguido da eutanásia, o esforço necessário para se controlar a infecção torna estas atividades pouco efetivas, uma vez que, na prática, as ações de controle são descontinuadas por falta de recursos materiais, humanos e financeiros, além das questões éticas e jurídicas associadas à esta medida de controle.

Palavras chaves: *Leishmania spp*, reservatório canino, modelagem matemática.

ABSTRACT

Visceral leishmaniasis is considered an emerging and neglected disease in the process of expansion to urban areas. The incidence of human leishmaniasis has been linked to canine visceral leishmaniasis. One of the main currently control strategies is culling the canine reservoir, which has been questioned about its efficiency in controlling the disease in humans. Araçatuba and Birigui are municipalities in the state of São Paulo, Brazil, with a canine seroprevalence of 8 to 10%. In these municipalities the control strategies aiming at the canine reservoir are based on serological survey and culling the seropositive dogs. Using data from the control program of these municipalities to parameterize a dynamic model, this study evaluated the efficacy of culling dogs in controlling the canine infection. Considering a continuous control and a serological survey effort three times higher than the average of the observed in Araçatuba and two times higher in Birigui, the activities related to culling dogs would, in theory, make possible to control the canine infection. However, if the only strategy used to control the canine reservoir is the serological survey, followed by the culling of the dogs the effort required to control infection makes this activity ineffective once these activities, in the real world, are discontinued due to the lack of material, human and financial resources, besides the ethical and legal issues associated of this control measure.

Key words: *leishmania spp*., canine reservoir, mathematical modeling.

INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral (LV) é a forma clínica mais grave das leishmanioses e é considerada uma doença emergente e negligenciada pela Organização Mundial de Saúde. Até

a década de 1990, com exceção da região sul, casos da doença eram registrados em todas as regiões brasileiras. Todavia, com a adaptação do vetor à ambientes urbanos, a dispersão da LV parece ter atingido toda a extensão do território brasileiro com registro do vetor e de casos caninos também no extremo sul do país [1,2]. Estudos epidemiológicos em áreas urbanas têm verificado sobreposição entre locais com incidência de casos humanos e elevada soroprevalência canina, evidenciando a estreita relação entre a infecção canina e a humana [3,4].

Atualmente a estratégia utilizada como controle da infecção do reservatório canino na rotina do Programa Nacional de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (PNVCLV) é a eutanásia de cães soropositivos. Apesar da larga utilização desta estratégia, muitos são os desafios na sua operacionalização e manutenção, o que leva a questionamentos quanto a sua efetividade [5,6]. Diferentes estratégias voltadas ao controle da infecção canina têm sido pesquisadas, como a vacinação de cães, o tratamento de cães infectados e o uso de coleiras impregnadas com deltametrina [7,8,9,10]. Dentre estas estratégias, a última apresenta resultados promissores quanto a sua utilização como medida de saúde pública [11,12].

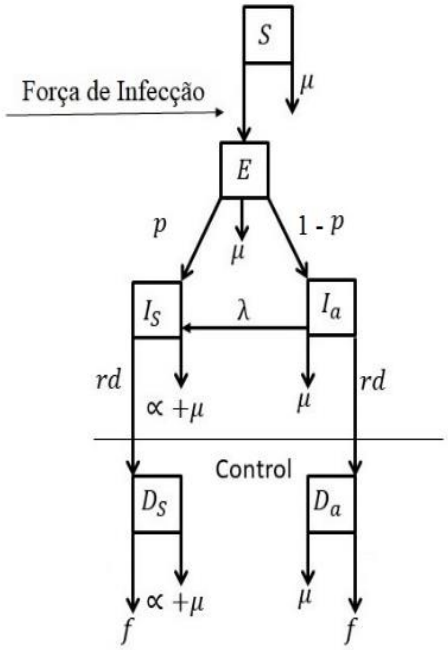
No estado de São Paulo, Brasil, Araçatuba e Birigui foram os primeiros municípios a confirmarem casos autóctones da leishmaniose visceral em 1999 e, desde então, estes municípios tornaram-se endêmicos para a doença[13]. Segundo dados da Superintendência de Controle de Endemias do estado de São Paulo (SUCEN), no período de 2012 a 2014 a incidência dos casos humanos de LV foi de 3,4 por 100 mil hab. em Araçatuba, e 7,3 por 100 mil hab., em Birigui. Neste mesmo período foram registradas soroprevalências da infecção canina de 8% em Araçatuba, e de 10% em Birigui [4].

Considerando-se a importância histórica e epidemiológica destes municípios para a disseminação da LV no estado de São Paulo, o objetivo desse estudo foi, a partir de um modelo dinâmico e considerando-se o cenário epidemiológico dos municípios de Araçatuba e Birigui, verificar o efeito da eutanásia de cães soropositivos como estratégia de controle da infecção canina.

METODOLOGIA

A dinâmica da transmissão da infecção foi representada por modelos dinâmicos adaptados do modelo proposto por Costa et al [14]. Foram testados dois modelos: um que considera indiretamente a transmissão vetorial, denominado modelo original (Figura 1, Tabela 1), e outro que considera a dinâmica de transmissão nos flebotomíneos. Em ambos os modelos as

populações são mantidas constantes no tempo, ou seja, a taxa de natalidade (entrada de indivíduos na população) corresponde à quantidade de indivíduos que morrem, seja por causas naturais ou por efeito da doença. Uma das dificuldades apontadas no controle da infecção é a reposição de cães na população após a eutanásia dos soropositivos [15]. Dessa forma, na presença de controle por eutanásia, modelou-se a reposição de 100% dos cães eliminados.



Força de Infecção $= \beta * S/N * \left(q_A * (I_a + D_a) + q_b * (I_s + D_s)\right)$

Figura 1 – Diagrama do modelo dinâmico original, sem vetores

As equações do Modelo original são apresentadas a seguir:

$$n = \left(\mu * (S + E + I_s + I_a + D_s + D_a) + f * (D_s + D_a) + \alpha * (I_s + I_a)\right)$$

$$N = (S + E + I_s + I_a + D_s + D_a)$$

$$\frac{dS}{dt} = n - \beta * S/N * \left(q_a * (I_a + D_a) + q_b * (I_s + D_s)\right) - \mu * S$$

$$\frac{dE}{dt} = \beta * S/N * \left(q_a * (I_a + D_a) + q_b * (I_s + D_s)\right) - E * (i + \mu)$$

$$\frac{dI_s}{dt} = p * i * E + l * I_a - I_s * (r + d_i + \alpha + \mu)$$

$$\frac{dI_a}{dt} = E * i * (1 - p) - I_a * (l + r + d_a + \mu)$$

$$\frac{dD_a}{dt} = I_a * (r + d_a) - D_a * (l + f + \mu)$$

$$\frac{dD_s}{dt} = I_s * (r + d_i) + D_a * l - D_s * (f + \alpha + \mu)$$

Tabela 1 – Parâmetros e símbolos utilizados no modelo original.

Símbolo	**Significado**	**Valor (unidade) Modelo Araçatuba**	**Valor (unidade) Modelo Birigui**	**Referência**
S	Cães suscetíveis	-	-	-
E	Cães latentes	-	-	-
Ia	Cães assintomáticos infectantes	-	-	-
Is	Cães sintomáticos infectantes	-	-	-
Da	Cães assintomáticos infectantes diagnosticados positivos	-	-	-
Ds	Cães sintomáticos infectantes diagnosticados positivos	-	-	-
N	População canina	8.538 cães	11.958 cães	IBGE, 2018
μ	Taxa mortalidade natural	$2,28 \times 10^{-4}$ dia^{-1}		Shimozako et al, 2017
α	Taxa mortalidade induzida pela infecção	$1,81 \times 10^{-3}$ dia^{-1}		Shimozako et al, 2017
l	Taxa de progressão de cães assintomáticos para sintomáticos	$6,94 \times 10^{-3}$ dia^{-1}		Pozio et al, 1981
i	Taxa de latência	$3,3 \times 10^{-2}$ dia^{-1}		Maia et al., 2010
β	taxa de transmissão	$3,06 \times 10^{-3}$ dia^{-1}	$2,95 \times 10^{-3}$ dia^{-1}	Valor encontrado na calibração do modelo
p	Proporção de cães que	0,32		Sevá et al., 2016

	evoluem para sintomáticos infectantes após período de latência			
qa	Infectividade de Ia	0,385		Laurenti et al., 2013
qb	Infectividade de Is	0,247		Laurenti et al., 2013
r	Cobertura anual de inquérito	0,09	0,07	SUCEN*
da	Sensibilidade do diagnóstico de assintomáticos	0,47		Grimaldi et al., 2012
di	Sensibilidade do diagnóstico sintomáticos	0, 98		Grimaldi et al., 2012
f	Cobertura anual de eutanásia canina	0,43	0,66	SUCEN*

*SUCEN = Superintendência de Controle de Endemias.

Em ambos os modelos, assume-se que todos os cães nascem suscetíveis à infecção e há homogeneidade na exposição dos cães suscetíveis ao agente etiológico. Assume-se também que a transmissão ocorre numa taxa constante e que, no modelo original, está implícito que a transmissão é mediada por picadas de flebotomíneos infectantes.

A taxa de aquisição da infecção por cães susceptíveis é denominada força de infecção, a qual depende do número de contatos entre os indivíduos susceptíveis e a fonte de infecção por unidade de tempo e da probabilidade de que estes contatos transmitam o parasita. No modelo original, não existe uma representação explícita do vetor, de forma que o contato modelado é direto entre cães suscetíveis e infectados. Optamos por não representar a dinâmica vetorial pelos seguintes motivos: 1) não há dados para parametrizar a dinâmica de flebotomíneos na área de estudo, 2) a dinâmica vetorial é rápida, da ordem de dias enquanto que a dinâmica nos cães tem escala de meses.

No modelo com vetor, as equações da dinâmica da infecção vetorial foram elaboradas utilizando-se como base o modelo de transmissão vetorial descrito em Nishiura [24]. Nesse modelo, a população de vetores é dividida em suscetíveis (V1), latentes (V2) e infectantes (V3). Assume-se que a transmissão é mediada por picadas de flebotomíneos infectantes (V3). A dinâmica da infecção nos cães é a mesma do modelo original. Os parâmetros desse modelo e seus significados são apresentados no Material suplementar I.

No modelo original, o parâmetro (β), que compõe a equação da força de infecção, foi calibrado de forma que no equilíbrio endêmico a soroprevalência canina correspondesse ao observado pelo inquérito sorológico canino realizado nos municípios de estudo. O equilíbrio endêmico da infecção é alcançado no momento em que a transmissão se mantem estável e os valores das classes de indivíduos no modelo permanecem constante no tempo. A equação abaixo representa a força de infecção, neste modelo:

$$Força\ de\ infecção\ canina = \beta * S/N * \left(q_a * (I_a + D_a) + q_b * (I_s + D_s)\right)$$

Segundo a história natural da infecção, após a aquisição do agente etiológico, o cão permanece em estágio de latência (E) durante a qual os cães não participam da transmissão da infecção e são negativos aos testes sorológicos. De forma simplificada, após o estágio de latência, os cães tornam-se infectantes, podendo apresentar ou não sintomas, caracterizando-se como sintomáticos (Is) ou assintomáticos (Ia), respectivamente. Estudos observaram que após um determinado período, uma parcela de cães assintomáticos apresenta sinais clínicos da doença: este processo foi incorporado ao modelo através de uma taxa (l) [20,25]. Não se considerou uma classe de indivíduos recuperados nos modelos, uma vez que a infecção não apresenta cura parasitológica, apesar de ser possível alcançar o desaparecimento dos sintomas, conferindo assim cura clínica [1]. Considerou-se como indivíduo infectante (Is e Ia, e após o diagnóstico Ds e Da), um cão infectado capaz de transmitir o parasito de forma competente ao vetor, e a partir deste, o parasito ser transmitido para outro indivíduo, onde se dará a infecção.

Os modelos foram implementados no programa R versão 3.2.3 [26], e resolvido numericamente utilizando-se a biblioteca “deSolve”. Cenários de aplicação do controle do reservatório canino por eutanásia dos soropositivos são representados no modelo pelos parâmetros: cobertura de inquérito (r), correspondente à identificação e coleta de amostra de sangue dos cães; sensibilidade do diagnóstico de cães sintomáticos (di) e sensibilidade do diagnóstico de cães assintomáticos (da); e cobertura de eutanásia dos cães com diagnóstico positivo (f). O modelo discrimina entre os cães infectantes, os que não foram diagnosticados (Is e Ia) e os cães que foram amostrados e receberam diagnóstico positivo (Ds e Da).

PARAMETRIZAÇÃO

Araçatuba (21º11'50 "Sul, 50º25'52" Oeste) e Birigui (21º11'49 "Sul, 50º21'10" Oeste) são municípios adjacentes e com características socioepidemiológicas semelhantes. Estão localizados na região noroeste do estado de São Paulo e são as principais cidades da região

administrativa de Araçatuba. A região tem temperatura média anual de 23 ° C e precipitação acumulada anual de 1229,5 mm. Araçatuba tem uma população estimada em 194.874 habitantes [16] e 52km^2 de área urbana. Birigui é um município menor com população estimada em 120.692 habitantes [17] e 46 km^2 de área urbana. Ambos são considerados, desde 1999, áreas de transmissão intensa de LV, pois têm apresentado médias anuais de casos humanos maiores ou iguais a 4,4 [1,3,4].

No período de setembro de 2015 a julho de 2016 foram realizados inquéritos sorológicos caninos juntamente com os agentes de endemias do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ), nas áreas com maior incidência da doença humana nos municípios de Araçatuba e Birigui. Os inquéritos sorológicos consistiram na identificação e coleta de amostra de sangue dos cães para diagnóstico sorológico da LV canina (TR-DPP®-Bio-Manguinhos e ELISA). Os testes diagnósticos foram executados conforme a rotina do Programa de Controle. As áreas selecionadas foram definidas com base em estudos anteriores que identificaram aglomerados de alto risco da infecção humana na área urbana dos municípios [13,4]. Antes da realização dos inquéritos, foram calculados os tamanhos amostrais que fossem representativos das áreas de estudo, em ambos os municípios. Para tal, o tamanho da população (N) foi estimado tomando-se como base a proporção de um cão para cinco pessoas, segundo Nunes et al [27]. As soroprevalências mensuradas nos inquéritos sorológicos foram de 8% (IC 95%: 6-10) em Araçatuba [28] e 4% (IC 95%: 3-5) em Birigui.

As informações sobre os cães amostrados e testados, assim como os eutanasiados, no período de 2012 a 2014, foram disponibilizadas pelo CCZ de cada município. A cobertura anual de inquérito foi calculada pela divisão entre o número de cães avaliados e o número de cães existentes no município. Já a cobertura anual de eutanásia foi calculada pela divisão entre o número de cães com diagnóstico positivo e o número de cães eutanasiados. As médias das coberturas anuais das ações de controle do reservatório canino, nos municípios de Araçatuba e Birigui, considerando os três anos anteriores ao estudo, foram, respectivamente, 9% e 8% de inquérito e 43% e 66% de eutanásia.

Na rotina do programa de controle do reservatório canino da leishmaniose visceral, dada a complexidade das atividades, o controle não ocorre periodicamente, havendo meses nos quais as atividades são interrompidas ou realizadas com menor esforço. A fim de verificar o efeito destas atividades considerando-se o mesmo esforço anual ao longo do tempo, as coberturas

anuais foram transformadas em taxas diárias de controle. Os valores dos parâmetros e seus significados são descritos no Tabela I.

CENÁRIOS AVALIADOS

Foram analisados três cenários: cenário de referência, cenário sem controle e cenário de controle aumentado. A variável analisada foi a soroprevalência:

$$Soroprevalência = \left((I_s + I_a + D_s + D_a)/(S + E + I_s + I_a + D_s + D_a)\right) * 100$$

Para o cálculo da soroprevalência não foram considerados os cães em estado de latência (E), uma vez que estes cães não são detectados pelos testes sorológicos e não participam da transmissão.

O cenário de referência foi calibrado considerando-se a estratégia do controle do reservatório canino segundo a rotina do PNVCLV realizada nos municípios estudados. O objetivo foi estimar a força de infecção que explica a atual soroprevalência mensurada. O cenário sem controle, no qual os parâmetros referentes ao controle foram mantidos nulos, foi avaliado considerando-se a força de infecção observada no cenário de referência. Desta forma, verificou-se o impacto do controle realizado atualmente, a partir do aumento da soroprevalência. Por fim, no cenário de controle aumentado, foram atribuídos valores às coberturas de inquérito e eutanásia de forma que no equilíbrio endêmico a infecção fosse controlada (soroprevalência igual a zero). Os resultados das simulações dos cenários de controle foram comparados ao final de períodos de 10, 20, 30 e 40 anos.

CÁLCULO DO NÚMERO REPRODUTIVO

O número reprodutivo calculado deve ser interpretado como número de reprodução efetivo (Re), isso é, considera a influência das atividades de controle do reservatório canino na estimativa do número médio de casos secundários produzidos por um caso primário. A expressão para o número reprodutivo da LV canina foi derivada a partir do modelo dinâmico sem vetores (modelo original) utilizando o método descrito em Van den Driessche & Watmough [29] e apresentado no material suplementar II. O objetivo foi verificar se o controle realizado atualmente nos municípios conseguiria reduzir o Re <1.

RESULTADOS

Os resultados do modelo original e do modelo que considera a dinâmica vetorial foram semelhantes (Figura 1 e 2). Observa-se que em todos os cenários a flutuação da soroprevalência canina é pequena ao longo do tempo. No cenário de referência, que representa a situação epidemiológica atual nos municípios, os resultados foram iguais para ambos os modelos. A incidência da infecção canina foi de 0,65 cães por dia em Araçatuba e de 0,46 cães por dia em Birigui, resultado coerente com o fato da força de infecção no município de Araçatuba (0,83 $x10^{-4}$) ser maior do que em Birigui (0,4 $x10^{-4}$).

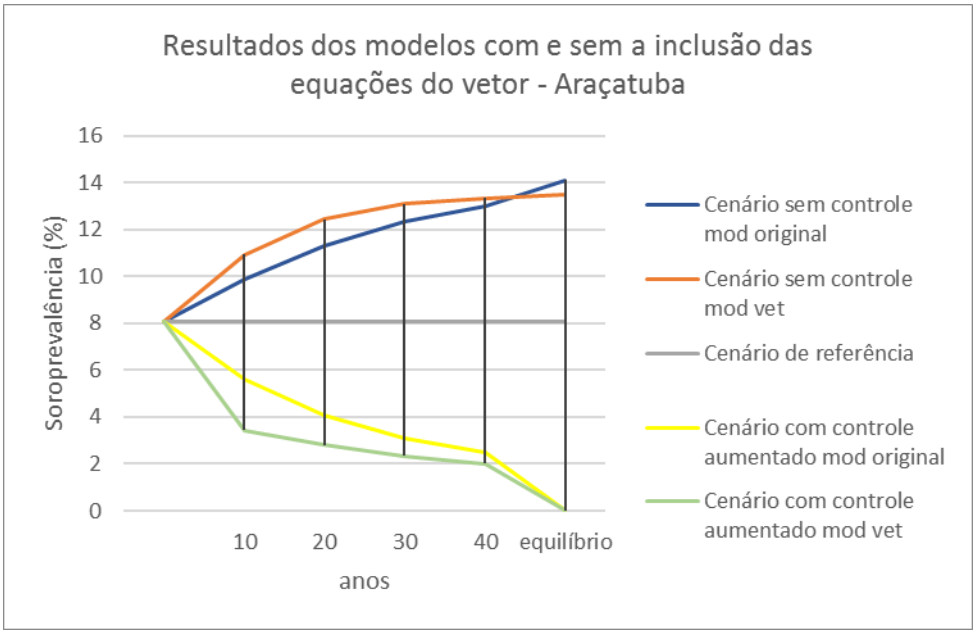


Figura 2 – Comparação entre o resultado de soroprevalência segundo os modelos dinâmicos: com a inclusão da dinâmica do vetor (mod vet) e o modelo que considera indiretamente a transmissão vetorial (mod original) referente ao município de Araçatuba. Cenário sem controle = parâmetro de controle mantidos nulos (di, da, r e f = Zero). Cenário de referência = modelo calibrado segundo a situação epidemiológica do município considerando coberturas anuais de controle de 9% de inquérito sorológico e 43% de eutanásia. Cenário de controle aumentado = coberturas anuais de controle de 25% de inquérito sorológico e 50% de eutanásia.

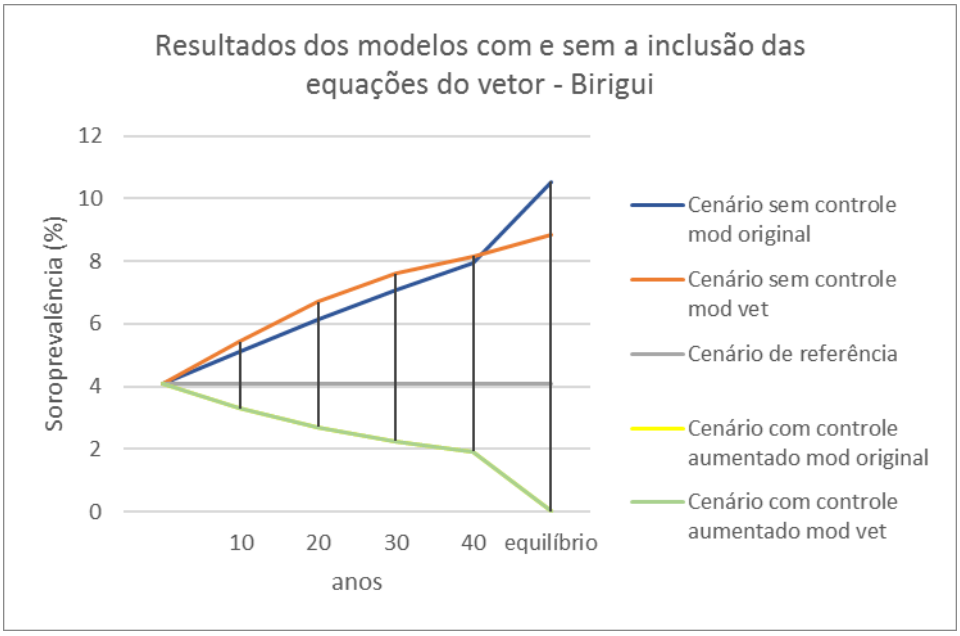


Figura 3 – Comparação entre o resultado de soroprevalência canina segundo os modelos dinâmicos: com a inclusão da dinâmica do vetor (mod vet) e o modelo que considera indiretamente a transmissão vetorial (mod original) referente ao município de Birigui. Cenário sem controle = parâmetro de controle mantidos nulos (di, da, r e f = Zero). Cenário de referência = modelo calibrado segundo a situação epidemiológica do município considerando coberturas anuais de controle de 7% de inquérito sorológico e 66% de eutanásia. Cenário de controle aumentado = coberturas anuais de controle de 15% de inquérito sorológico e 70% de eutanásia, o resultado para este cenário foi igual para ambos os modelos.

Comparando-se os resultados do modelo original no cenário de referência com o cenário sem controle observa-se que o controle realizado tem possibilitado redução de 6% na soroprevalência canina em ambos os municípios estudados. Na ausência das atividades de controle do reservatório canino a incidência da infecção corresponderia a 1,05 casos por dia em Araçatuba e 1,08 casos por dia em Birigui. O modelo com vetor mostrou uma redução na soroprevalência de 5% e uma incidência de 1,01 casos por dia, para Araçatuba e, para Birigui, redução na soroprevalência de 4% e incidência de 0,93 casos por dia.

O controle da infecção canina foi alcançado no equilíbrio endêmico, ou seja, a soroprevalência canina foi reduzida a zero, tanto no modelo original como do modelo com vetor, utilizando-se os mesmos valores de cobertura anual de controle. Assim, a infecção canina seria controlada caso as coberturas anuais de inquérito sorológico e eutanásia fossem, respectivamente de 25% e 50% em Araçatuba e 15% e 70% em Birigui.

Na situação epidemiológica observada nos municípios, na ausência de controle o número reprodutivo da LV canina seria 1,16 para Araçatuba e 1,12 para Birigui. Com o controle implementado, o número reprodutivo em Araçatuba e Birigui cai para 1,09 e 1,04, respectivamente, o que sugere que estas ações de controle não são suficientes para interromper a transmissão da infecção.

DISCUSSÃO

Atualmente, as estratégias de controle do reservatório canino da LV implementada no nível de Saúde Pública são o inquérito sorológico e a eutanásia de cães soropositivos. O PNVCLV preconizava até 2016 a realização anual de inquérito sorológico canino censitário para regiões com transmissão intensa da doença [30]. Contudo, sabe-se da complexidade operacional, dos altos custos, das questões éticas e do ônus emocional por parte de profissionais e tutores decorrente das atividades de eutanásia, que fomentam a recusa na participação nos inquéritos e na posterior entrega de cães infectados [5]. Portanto, as coberturas anuais de controle observadas nos municípios de Araçatuba e Birigui, são o reflexo dos desafios enfrentados e podem ser consideradas as coberturas dentro do factível para estas áreas.

Contudo, essas atividades de controle do reservatório canino não se mostraram suficientes para interromper a transmissão da LV canina. Apesar de não ter sido observado um Re<1, chegou-se próximo a este resultado, considerando-se a implementação contínua das atividades de controle. Dessa forma, a associação de diferentes estratégias de controle do reservatório canino pode levar ao cenário de interrupção da transmissão.

Nunes et al [31], em estudo também realizado no município de Araçatuba, verificaram correlação negativa entre a ocorrência de casos humanos de LV e a realização do controle do reservatório canino nos anos anteriores. Apesar dos desafios envolvidos na estratégia de controle por eutanásia de cães soropositivos, os autores observaram que com a interrupção do controle a incidência da infecção humana aumentou. Dessa forma, a redução de 6% na soroprevalência, quando comparado um cenário sem controle com o cenário de referência, no qual as coberturas das atividades de controle são baixas, pode ter grande importância epidemiológica, uma vez que, pequenas alterações na dinâmica de transmissão canina possibilitam, em longo prazo, a diminuição de casos em humanos [4,18,21].

Segundo Costa et al [14], o limiar de $R0$ no qual a LV canina poderia diminuir para um patamar de 2% de soroporevalência seria de 1,41 para programas de controle que aplicam a

eutanásia de cães soropositivos, considerando-se um esforço de controle mensal e contínuo. Concordando com esse achado, observamos, que em 40 anos de aplicação contínua e anual das atividades de controle, a infecção canina alcançaria um patamar de 2% de soroporevalência. Porém, num cenário realístico, as atividades de controle são frequentemente descontinuadas por falta de recursos materiais, financeiros e humanos [5]. Em uma primeira análise, aumentar o esforço de eutanásia em Araçatuba e Birigui para respectivamente 50% e 70% parece ser possível, uma vez que esses municípios já apresentam coberturas de eutanásia próximas a esses valores. No modelo foram considerados apenas os cães verdadeiros positivos para a infecção. Contudo, os testes sorológicos utilizados na rotina, possuem especificidade diferentes de 100%, o que resulta na eutanásia desnecessário de cães não infectados [22,23]. Portanto, na prática, seria necessário realizar a eutanásia de uma quantidade maior de cães de tal forma a alcançar as coberturas de eutanásia observadas no modelo. Considerando-se as dificuldades operacionais e de manutenção envolvidas na execução de inquérito sorológico, o aumento anual da cobertura dessa atividade seria o equivalente a triplicar o esforço atual em Araçatuba e duplicar em Birigui, o que não parece ser pouco factível.

Modelos dinâmicos da transmissão da leishmaniose visceral têm sido utilizados para avaliar o efeito de diferentes medidas de controle, que em geral, apontam para o uso de coleiras impregnadas com inseticida como a medida mais eficaz dentre as estratégias de eutanásia, tratamento e vacinação de cães [18,21,32]. Sevá et al [21] observaram que o encoleiramento de cães contra a LV foi a estratégia mais eficaz, quando comparada com a eutanásia ou com a vacinação de cães, em um cenário no qual 90% dos cães usavam a coleira e havendo reposição imediata das coleiras perdidas. No entanto, para que uma medida de controle possa ser utilizada no nível de saúde pública é necessário, além da comprovação de sua eficácia, que sua aplicação seja economicamente viável na rotina do programa, uma vez que os recursos são limitados. Shimozako et al [18] fizeram uma análise de custo-efetividade das medidas de controle considerando a dinâmica da infecção, e observaram que apesar dos desafios logísticos no uso de coleiras impregnadas com deltametrina, como a reposição das coleiras a cada seis meses ou precocemente devido a perdas, essa foi a estratégia de melhor custo-efetividade no controle da LV. Adicionalmente, estudos de campo também revelaram a efetividade desta estratégia como medida capaz de promover a redução na prevalência da infecção canina, na taxa de flebotomíneos infectados e na incidência de casos humanos [8,9,11,12]. Em um estudo randomizado em seis municípios no Brasil, Werneck et al [12] observaram que a associação entre as estratégias de eutanásia de cães soropositivos e o

encoleiramento de cães contra a LV reduziram significativamente a incidência de casos humanos em 27%.

Os resultados deste estudo mostraram que, em teoria, a eutanásia de cães soropositivos é capaz de controlar a infecção canina em cenários nos quais as atividades sejam implementadas continuamente, mesmo em situações com reposição de 100% dos cães eliminados.

A utilização de modelo dinâmico, apesar do uso de parâmetros próximos a realidade, faz com que os resultados do estudo teórico sejam limitados aos casos em que o modelo é válido. Pouco se sabe sobre a capacidade vetorial de flebotomíneos infectados, como por exemplo a densidade do vetorial por hospedeiro e a taxa de vetor infectados a partir de picadas em hospedeiros infectados. Porém, estes são parâmetros essenciais para a calibração de modelos que consideram a dinâmica da infecção vetorial [18,21]. Na prática, são atribuídos valores a esses parâmetros a fim de adequar o modelo à situação epidemiológica de LV. No presente estudo foram verificadas semelhanças entre os resultados do modelo com as equações da dinâmica da infecção vetorial (modelo com vetor) e os do modelo que considera indiretamente a transmissão vetorial (modelo original) na avaliação da infecção canina. Portanto, dadas as incertezas quanto aos parâmetros vetoriais e prezando pela simplicidade matemática, o modelo original é o mais parcimonioso, ainda que possíveis variações na capacidade vetorial não sejam consideradas.

Outra limitação dos modelos é o pressuposto de que todos os cães estão expostos de forma homogênea ao risco de contato com o vetor. Porém, como observado por Costa et al [28], o risco varia espacialmente, dependendo das características dos cães, de seus tutores e dos domicílios. Estes autores verificaram a existência de um padrão local da transmissão da infecção entorno dos domicílios, relacionado com as características do vetor, e observaram uma associação positiva entre a infecção e o local onde os cães são mantidos ao longo do dia.

Além disso, os modelos não consideram outros hospedeiros em potencial, como animais silvestres, que poderiam reduzir o impacto do controle caso estivessem presentes. Finalmente, o controle é implementado continuamente com mesmo esforço, o que não ocorre em situações reais, em que o controle é descontinuado devido a problemas orçamentários e operacionais. Desta forma, os resultados deste estudo devem ser avaliados com cautela e de um ponto de vista realista, observando que apesar das dificuldades associadas a eutanásia de cães soropositivos, esta é uma medida que tem contribuído para a diminuição da prevalência canina, e que no momento esta estratégia tem sido a medida de controle utilizada no nível de saúde pública enquanto não se viabiliza a aplicação de outras medidas de controle. Dessa

forma, são necessários novos estudos sobre o custo efetividade destas outras estratégias de controle que possam ser associadas a eutanásia de cães soropositivos.

REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. Gui de Vigilância em Saúde. Brasília; 2016; p.521-42.

2. Bianchi MV, Fredo G, Tagliari NJ, Filho RVL, Lorenzo C, Lupion CG, et al. Leishmaniose Visceral Canina autóctone na região urbana de Porto Alegre, RS, Brasil. Acta Sci Vet. 2016; 44(1):110.

3. Oliveira AM, Vieira CP, Dibo MR, Guirado MM, Rodas LAC, Chiaravalloti Neto F. Dispersal of Lutzomyia longipalpis and expansion of canine and human visceral leishmaniasis in São Paulo State, Brazil. Acta Tropica. 2016; 164(2016):233–42. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.09.014

4. Costa DNCC, Bermudi PMM, Rodas LAC, Nunes CM, Hiramoto RM, Tolezano JE, et al. Leishmaniose visceral em humanos e relação com medidas de controle vetorial e canino. Rev Saude Publica. 2018; 52(92):1-11.

5. Zuben APBV & Donalísio MR. Dificuldades na execução das diretrizes do Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral em grandes municípios brasileiros. Cad. Saude Publica. 2016; 32(6):e00087415. http://dx.doi.org/10.1590/0102311X00087415

6. Werneck GL. Controle da leishmaniose visceral no Brasil: o fim de um ciclo? Cad. Saude Publica, Rio de Janeiro. 2016; 32(6):eED010616. http://dx.doi.org/10.1590/0102-311X00ED010616

7. Nery G, Becerra DRD, Borja LS, Magalhães-Junior JT, Souza BMPS, Franke CR, et al. Avaliação da infectividade parasitária a Lutzomyia longipalpis por xenodiagnóstico em cães tratados para leishmaniose visceral naturalmente adquirida. Pesq. Vet. Bras. 2017; 37(7): 701-7. https://dx.doi.org/10.1590/s0100-736x2017000700009

8. Andrade AJD, Quint BB, Raffoul GES, Werneck GL, Rangel EF, Romero GAS. Effectiveness of dog collars impregnated with 4% deltamethrin in controlling visceral

leishmaniasis in Lutzomyia longipalpis (Diptera: Psychodidade: Phlebotominae) populations. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2018; 113(5). http://dx.doi.org/10.1590/0074-02760170377

9. Kazimoto TA, Amora SSA, Figueiredo FB, Magalhães JME, Freitas YBN, Sousa MLR, et al. Impact of 4% Deltamethrin-Impregnated Dog Collars on the Prevalence and Incidence of Canine Visceral Leishmaniasis. Vector Borne Zoonotic Dis. 2018; 18(7). https://doi.org/10.1089/vbz.2017.2166

10. Toepp A, Larson M, Wilson G, Bennett C, Leal-Lima A, Anderson B, et al. Randomized, controlled, double-blinded field trial to assess Leishmania vaccine effectiveness as immunotherapy for canine leishmaniosis. Vaccine. 2018; 36(43):6433-41. https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.08.087

11. Maroli M, Mizzon V, Siragusa C, D'Oorazi A, Gradoni L. Evidence for an impact on the incidence of canine leishmaniasis by the mass use of deltamethrin-impregnated dog collars in southern Italy. Med Vet Entomol. 2001; 15(4):358-63. https://doi.org/10.1046/j.0269-283x.2001.00321.x

12. Werneck GL, Figueiredo F, Cruz, MP. Impact of 4% deltamethrin-impregnated dog collars on the incidence of human visceral leishmaniasis. Int J Infect Dis. 2018; 73:42. https://doi.org/10.1016/j.ijid.2018.04.3519

13. Vieira CP, Oliveira AM, Rodas LAC, Dibo MR, Guirado MM, Chiaravalloti Neto F. Temporal, spatial and spatiotemporal analysis of the occurrence of visceral leishmaniasis in humans in the City of Birigui, State of São Paulo, from 1999 to 2012. Rev Soc Bras Med Trop. 2014; 47(3):350-8. http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0047-2014

14. Costa DNCC, Codeço CT, Silva MA, Werneck GL. Culling dogs in scenarios of imperfect control: realistic impact on the prevalence of canine visceral leishmaniasis. PLoS Negl Trop Dis. 2013;7(8):e2355. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002355

15. Nunes CM, Lima VMF, Paula HB, Perri SHV, Andrade AM, Dias FEF et al. Dog culling and replacement in an area endemic for visceral leishmaniasis in Brazil. Vet Parasitol 2008;153:19-23. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.01.005

16. IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Cidades, Araçatuba, Panorama. 2018a [Acesso em 20 Novembro 2018]. Disponível em: https://cidades.ibge.gov.br/v4/brasil/sp/aracatuba/panorama

17. IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Cidades, Birigui, Panorama. 2018b [Acesso em 20 Novembro 2018]. Disponível em: https://cidades.ibge.gov.br/brasil/sp/birigui/panorama

18. Shimozako HJ, Wu J, Massad E. The Preventive Control of Zoonotic Visceral Leishmaniasis: Efficacy and Economic Evaluation. Comput Math Methods Med. 2017;2017:4797051 https://doi.org/10.1155/2017/4797051

19. Maia C, Nunes M, Cristóvão J, Campino L. Experimental canine leishmaniasis: clinical, parasitological and serological follow-up. Acta Trop. Elsevier B.V. 2010; 116: 193–9. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2010.08.001

20. Pozio E, Grandote L, Betti S, Granita M. Leishmaniasis in Toscana (Ítalo): VI Ca nine leishmaniasis in tem fotos of. Monte Argentário (Grosseto). Acta Troppica, 1981, 38:383-393.

21. Sevá AP, Ovallos FG, Amaku M, Carrillo E, Moreno J, Galati EA, et al. Canine-based strategies for prevention and control of visceral leishmaniasis in Brazil. PloS one. 2016; 11(7):e0160058. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160058

22. Laurenti MD, Rossi CN, da Matta VLR, Tomokane TY, Corbett CEP, Secundino NFC et al. Asymptomatic dogs are highly competent to transmit Leishmania (Leishmania) infantum chagasi to the natural vector. Vet Parasitol. 2013; 196(3-4): 296–300. http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.03.017

23. Grimaldi G, Teva A, Ferreira AL, dos Santos CB, Pinto I de-S, de Azevedo CT, et al. Evaluation of a novel chromatographic immunoassay based on Dual-Path Platform technology (DPP1 CVL rapid test) for the serodiagnosis of canine visceral leishmaniasis. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2012; 106: 54–9. http://dx.doi.org/10.1016/j.trstmh.2011.10.001

24. Nishiura H. Mathematical and statistical analyses of the spread of dengue. Dengue Bulletin. 2006; 30: 51–67.

25. Marzochi MCA, Coutinho SG, Sabroza PC. Leishmaniose Visceral canina no Rio de Janeiro – Brasil. Cad Saude Publica. 1985; 1(4):432-46. http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X1985000400004

26. R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing, Vienna, Austria 2017 [Acesso em 20 Jan 2018]. Disponível em: https://www.r-project.org/

27. Nunes CM, Martines DA, Fikaris S, Queiroz LH. Avaliação da População Canina da Zona Urbana do Município de Araçatuba, São Paulo. Rev Saude Publica.1997; 31(3):308-9. http://dx.doi.org/10.1590/S003489101997000300013

28. Costa DNCC, Blangiardo M, Rodas LAC, Nunes CM, Hiramoto RM, Tolezano JE, et al. 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 veterinary research, 2018; 14(1): 229. https://doi.org/10.1186/s12917-018-1550-9

29. Van den Driessche P, Watmough J. Reproduction numbers and sub-threshold endemic equilibria for compartmental models of disease transmission, Mathematical Biosciences, Volume 180, Issues 1-2, 2002, p. 29-48.

30. Brasil. Ministério da Saúde. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Brasília; 2014.

31. Nunes CM, Pires MM, Silva KM, Assis FD, Filho JG, Perri SHV. Relationship between dog culling and incidence of human visceral leishmaniasis in an endemic area. Vet Parasitol. 2010; 170: 131-3. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.01.044

32. Dye C. The logic of Visceral Leishmaniasis control. Am. J. Trop. Med. Hyg., 1996, 55: 125–130.

MATERIAL SUPLEMENTAR I – MODELO COM VETOR

Foi elaborado um modelo da dinâmica de transmissão da leishmaniose visceral canina com equações da dinâmica da infecção no vetor (Tabela 2), baseado no modelo de transmissão vetorial descrito em Nishiura (2006). Nesse modelo (mod vet), a população de vetores é dividida em suscetíveis (V1), latentes (V2) e infectantes (V3). Assume-se que a transmissão é mediada por picadas de flebotomíneos infectantes (V3) e que ocorre numa taxa constante. Assume-se também, que todos os cães nascem suscetíveis à infecção e a exposição dos cães suscetíveis ao agente etiológico é homogênea. A dinâmica da infecção nos cães é a mesma do modelo original (Tabela 1).

Tabela 2 – Parâmetros e símbolos utilizados no modelo com vetor.

Símbolo	Significado	Valor	Referência	Símbolo

		(unidade)		
V1	Flebotomíneos não infectados	-	-	**V1**
V2	Flebotomíneos infectados e não infectantes	-	-	**V2**
μv	Taxa de mortalidade	5 10^{-2} dia^{-1}		Shimozako et al, 2017
b	Fração de picadas efetivas	1 10^{-2} dia^{-1}		Shimozako et al, 2017
ac	Taxa média de picadas	2 10^{-1} dia^{-1}		Shimozako et al, 2017
pv	período de incubação extrínseca	1,4 10^{-1} dia^{-1}		Shimozako et al, 2017

Equações do modelo com o vetor:

$$n = \left(\mu * (S + E + I_s + I_a + D_s + D_a) + f * (D_s + D_a) + \alpha * (I_s + I_a)\right)$$

$$N = (S + E + I_s + I_a + D_s + D_a)$$

$$nv = mv * (V1 + V2 + V3)$$

$$\frac{dS}{dt} = n - (b * ac * S * V3)/N - \mu * S$$

$$\frac{dE}{dt} = (b * ac * S * V3)/N - E * (i + \mu)$$

$$\frac{dI_s}{dt} = p * i * E + l * I_a - I_s * (r + d_i + \alpha + \mu)$$

$$\frac{dI_a}{dt} = E * i * (1 - p) - I_a * (l + r + d_a + \mu)$$

$$\frac{dD_a}{dt} = I_a * (r + d_a) - D_a * (l + f + \mu)$$

$$\frac{dD_s}{dt} = I_s * (r + d_i) + D_a * l - D_s * (f + \alpha + \mu)$$

$$\frac{dV1}{dt} = nv - \left((ac * qb * I_s) + (ac * qa * I_a)\right)/N - V1 * mv$$

$$\frac{dV2}{dt} = \left((ac * qb * I_s) + (ac * qa * I_a)\right)/N - V2 * (\mu v + pv)$$

$$\frac{dV3}{dt} = V2 * pv - V3 * mv$$

$$Força\ de\ infecção\ canina = (b * ac * S * V3)/N$$

MATERIAL SUPLEMENTAR II – CÁLCULO DO Re

O no cálculo do Re começa-se distinguindo os compartimentos que produzem novas infecções: E, Ia, Is, Da e Ds, portanto, m = 5. Define-se o vetor:

Fi = taxa de surgimento de novos infectados no compartimento i, i = 1, ..., m

$$F_i = \begin{pmatrix} \left((D_a + I_a) * q_a + (D_s + I_s) * q_b\right) S * \beta / N \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \end{pmatrix}$$

Em seguida, define-se os vetores de fluxos não associados a transmissão:

$$V_i^- : taxa\ de\ saída\ do\ compartimento\ i$$

$$V_i^+ : taxa\ de\ entrada\ do\ compartimento\ i$$

$$V_i^- = \begin{pmatrix} E * (i + \mu) \\ I_a * \left(l + \mu + (r * d_a)\right) \\ I_s * \left(\alpha + \mu + (r * d_i)\right) \\ D_a * (f + l + \mu) \\ D_s * (\alpha + f + \mu) \end{pmatrix}$$

$$V_i^+ = \begin{pmatrix} 0 \\ E * i * p \\ -E * i * (p - i) + I_a * l \\ I_a * r * d_a \\ D_a * l + I_s * r * d_i \end{pmatrix}$$

$$Somando\ V = V_i^- + V_i^+, temos:$$

$$V = \begin{pmatrix} E * (i + \mu) \\ -E * i * p + I_a * (l + \mu) \\ E * i * (p - i) + I_s * (\alpha + \mu) - I_a * l \end{pmatrix}$$

$O\ Re$ é $definido\ como: Re = \rho * (F * V^1)$, onde ρ é o maior autovalor. A expressão obtida é:

$$R0 = \frac{p_a q_a z_1 z_2 z_3 (a+\mu) + q_b z_1 z_2 z_3 (l - \mu p_a + \mu) + r d_a (p_a q_a z_1 z_3 (a+\mu) + q_b z_3 z_4)}{(z_1 z_2 (i+\mu)(a+\mu+rd_j)(l+\mu+rd_a))} +$$

$$+ \frac{r d_j (p_a q_a z_1 z_2 z_3 + q_b z_2 z_3 (l - \mu pa + \mu) + r d_a z_3 z_5)}{(z_1 z_2 (dt+\mu)(a+\mu+rd_j)(l+\mu+rd_a))}$$

na qual,

$Z_1 = \alpha + f + \mu$

$Z_2 = f + l + \mu$

$Z_3 = \beta * i$

$Z_4 = -\alpha * f * p_a + \alpha * f + \alpha * l - \alpha * \mu * p_a + \alpha * \mu - f^2 * p_a + f^2 - f * l * p_a$

$+f * l - 2 * f * \mu * p_a + 2 * f * \mu + l * \mu - \mu^2 * p_a + \mu^2$

$Z_5 = \alpha * p_a * q_a + f * p_a * q_a - f * p_a * q_b + f * q_b + l * q_b + \mu * p_a * q_a$

$-\mu * p_a * q_b + \mu * q_b$

$p_a = 1 - p$

CONCLUSÕES

A queda nas taxas de incidência da doença humana, verificada ao longo do período de 2007 a 2015, em toda a área urbana de Araçatuba, sinaliza que mesmo em baixas coberturas, a estratégia de eutanásia de cães positivos auxiliou no controle da transmissão. As baixas coberturas de controle estão relacionadas com a falta de recursos materiais e humanos, que comprometem operacionalização e manutenção do controle químico e do reservatório canino. Dado a escassez dos recursos locais, a rotina do programa de controle priorizou áreas com ocorrência de LVH, com o intuito de diminuir o potencial de transmissão. Entretanto, a não realização das atividades de vigilância e controle em regiões sem ocorrência de casos humanos possibilita a circulação da infecção, uma vez que a infecção canina precede a humana. Quanto à queda na soroprevalência da infecção canina ao longo do período estudado, esse resultado deve ser considerado com cautela, pois a amostra de cães avaliados pela rotina do programa de controle pode não ser representativa da população de cães da área amostrada.

A fim de contornar possíveis viés na verificação da soroprevalência canina, foram realizados inquéritos sorológicos em uma amostra de cães representativa da região de maior incidência humana da LV, no período de 2015 a 2016. E como resultado observou-se uma soroprevalência canina de 8% no município de Araçatuba e 4% em Birigui. A partir dos dados coletados em Araçatuba, foi verificada uma associação significativa entre a infecção canina e as seguintes características dos domicílios e hábitos dos cães e de seus tutores: domicílios que tiveram mais de 10 cães ao longo do tempo, domicílios com histórico de cães que foram a óbito por LV ou por outras causas não naturais, e permanência dos cães no peridomicílio ao longo do dia. A pequena dependência espacial observada entre os domicílios com cães infectados indica um padrão local transmissão da LV no entorno dos domicílios (46m), devido a características do vetor, que formam aglomerados perto de domicílios devido ao fornecimento de alimentos e abrigo.

Os resultados dos modelos dinâmicos de transmissão da infecção canina permitiram observar, considerando controle contínuo e um esforço das atividades de inquérito sorológico três vezes maior que a média do observado em Araçatuba e duas vezes maior em Birigui, que as atividades relacionadas à eutanásia de cães com diagnóstico de LV possibilitariam, em teoria, o controle da infecção canina. No entanto, se a única estratégia utilizada no controle do reservatório canino for o inquérito sorológico, seguido da eutanásia, o esforço necessário para se controlar a infecção torna estas atividades pouco efetivas, uma vez que, na prática, as ações

de controle são descontinuadas e faltam recursos materiais, humanos e financeiros, além das questões éticas e jurídicas associadas. A associação da eutanásia de cães soropositivos com outras estratégias de controle, como por exemplo o uso de coleiras impregnadas com inseticidas, é uma alternativa a eutanásia indiscriminado de cães, o que reforça a necessidade de novos estudos que verifiquem o custo-efetividade do encoleiramento de cães como estratégia de controle da LV no nível de saúde pública.

REFERÊNCIAS

Abrantes TR, Werneck GL, Almeida AS, Figueiredo FB. Fatores ambientais associados à ocorrência de leishmaniose visceral canina em uma área de recente introdução da doença no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Cad. Saúde Pública. 2018; 34(1):e00021117. https://dx.doi.org/10.1590/0102-311x00021117

Alvar J, Yactayo S, Bern C. Leishmaniasis and poverty. Trends Parasitol. 2006; 22(12):552-7. https://doi.org/10.1016/j.pt.2006.09.004

Akaike, H. Information theory as an extension of the maximum likelihood principle. In: Second International Symposium on Information Theory (B.N.Petrov & F.Csaki, eds). Budapest: Akademiai Kiado; 1973. p. 267–81.

Amora SSA, Santos MJP, Alves ND, Costa SCG, Calabrese KS, Monteiro AJ, et al. Fatores relacionados com a positividade de cães para leishmaniose visceral em área endêmica do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. Cienc. Rural. 2006; 36:1854–9. http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782006000600029

Belo VS, Struchiner CJ, Werneck GL, Barbosa DS, de Oliveira RB, Neto RGT, et al. A systematic review and meta-analysis of the factors associated with Leishmania infantum infection in dogs in Brazil. Vet Parasitol 2013a; 195:1–13. http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.03.010

Belo VS, Werneck GL, Barbosa DS, Simões TC, Nascimento BWL, da Silva ES, et al. Factors associated with visceral leishmaniasis in the Americas: a systematic review and meta-analysis. PLoS Negl Trop Dis. 2013b; 7(4) :e2182. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002182

Bianchi MV, Fredo G, Tagliari NJ, Filho RVL, Lorenzo C, Lupion CG, et al. Leishmaniose Visceral Canina autóctone na região urbana de Porto Alegre, RS, Brasil. Acta Sci Vet. 2016; 44(1):110.

Blangiardo M & Cameletti M. Spatial and Spatio-Temporal Bayesian Models with R-INLA. Chichester: John Wiley and Sons; 2015.

Boukhalfa F, Helal M, Lakmeche A. Mathematical Analysis of Visceral Leishmaniasis Model. Res. Appl. Math. 2017; 1:101263. Doi: 10.11131/2017/101263

Brasil. Ministério da Saúde (BR), Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Brasília (DF); 2014 [Acesso em 20 Jan 2018]. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmaniose_visceral_1edicao.pdf

Brasil. Ministério da Saúde (BR), Guia de Vigilância em Saúde. Brasília; 2016 [Acesso 21 de Mar 2018]. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_epidemiologica_7ed.pdf.

Buuren S & Groothuis-Oudshoorn K. Mice: Multivariate imputation by chained equation in R. J Stat Softw. 2011; 45(3):1-67. Doi: 10.18637/jss.v045.i03

Camargo-neves VLF, Katz G, Rodas LAC, Poletto DW, Lage CL, Spínola RMF et. al. Use of spatial analysis tools in the epidemiological surveillance of American visceral leishmaniasis, Araçatuba, São Paulo, Brazil, 1998-1999. Cad. Saude Publica. 2001; 17(5):1263-7. http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2001000500026

Campos R, Santos M, Tunon G, Cunha L, Magalhães L, Moraes J, et al. Epidemiological aspects and spatial distribution of human and canine visceral leishmaniasis in an endemic area in northeastern Brazil. Geospatial Health. 2017;12(1):67-73. http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612014008

Cardim MFM, Guirado MM, Dibo MR, Chiaravalloti-Neto F. Visceralleishmaniasis in the state of Sao Paulo, Brazil: spatial and space-time analysis. Rev Saude Publica. 2016; 50:48. http://dx.doi.org/10.1590/S1518-8787.2016050005965.

Casanova C, Colla-Jacques FE, Hamilton JGC, Brazil RP, Shaw JJ. Distribution of Lutzomyia longipalpis chemotype populations in São Paulo State, Brazil. PLoS Negl Trop Dis. 2015; 9:3. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003620

Costa AIP, Casanova C, Rodas LAC, Galati EAB. Atualização da distribuição geográfica e primeiro encontro de Lutzomyia longipalpis em área urbana no Estado de São Paulo, Brasil. Rev Saude Publica. 1997; 31:632-3. Doi: 10.1590/S0034-89101997000700012

Costa CHN, Tapety CMM, Werneck GL. Controle da leishmaniose visceral em meio urbano: estudo de intervenção randomizado fatorial. Rev Soc Bras Med Trop. 2007; 40(4):415-9. https://dx.doi.org/10.1590/S0037-86822007000400009

Costa CHN. How effective is dog culling in controlling zoonotic visceral leishmaniasis. A critical evaluation of the science, politics and ethics behind this public health policy. Rev Soc Bras Med Trop. 2011; 44(2):232-42. http://dx.doi.org/10.1590/S0037-86822011005000014

Costa DNCC. Avaliação da eliminação canina como estratégia de controle de Leishmaniose Visceral Canina a partir de modelos teóricos de dinamica de transmissão [tese]. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz; 2012.

Costa DNCC, Codeço CT, Silva MA, Werneck GL. Culling dogs in scenarios of imperfect control: realistic impact on the prevalence of canine visceral leishmaniasis. PLoS Negl Trop Dis. 2013;7(8):e2355. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002355

Coura-Vital W, Marques MJ, Veloso VM, Roatt BM, Aguiar-Soares RDO, Reis LES, et al. Prevalence and factors associated with Leishmania infantum infection of dogs from an urban area of Brazil as identified by molecular methods. PLoS Negl. Trop. Dis. 2011; 5(8):e1291. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001291

Courtenay O, Quinnell RJ, Garcez LM, Shaw JJ, Dye C. Infectiousness in a cohort of brazilian dogs: why culling fails to control Visceral Leishmaniasis in areas of high transmission. Med. Vet. Ent. 2002; 186(9):1314-20. https://doi.org/10.1086/344312

Cressie N. Statistics for spatial data. [S.I.]:wiley; 1993.

Da Silva JP, Werneck GL, Macedo EC, de Carvalho H, Cruz MSP. Factors associated with Leishmania chagasi infection in domestic dogs from Teresina, State of Piauí, Brazil. Rev Soc Bras Med Trop. 2012; 45(4):480-4. https://dx.doi.org/10.1590/S0037-86822012005000009

Dantas-Torres F & Brandão-Filho SP. Visceral Leishmaniasis in Brazil: Revisiting paradigms of epidemiology and control. Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo. 2006; 48(3):151-6. http://dx.doi.org/10.1590/S0036-46652006000300007

De Oliveira EF, Silva EA, Casaril AE, Fernandes CES, Filho AP, Gamarra RM, et al. Behavioral aspects of Lutzomyia longipalpis (Diptera: Psychodidae) in urban area endemic for visceral leishmaniasis. J Med Entomol. 2013; 50(2):277-84. http://dx.doi.org/10.1603/ME12082

Faye B, Bucheton B, Bañuls Al, Senghor Mw, Niang Aa, Diedhiou S et al. Seroprevalence of Leishmania infantum in a rural area of Senegal: analysis of risk factors involved in transmission to humans. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2011; 105(6):333-40. https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2011.02.009

Figueiredo ABF, Werneck GL, Pires e Cruz, MDS, Silva JPD, Almeida ASD. Land use, land cover, and prevalence of canine visceral leishmaniasis in Teresina, Piauí State, Brazil: an approach using orbital remote sensing. Cad. Saude Publica. 2017; 33 (10):e00093516. http://dx.doi.org/10.1590/0102-311x00093516

França-Silva JC, da Costa RT, Siqueira AM, Machado-Coelho GL, da Costa CA, Mayrink W, et al. Epidemiology of canine visceral leishmaniosis in the endemic area of Montes Claros Municipality, Minas Gerais State, Brazil. Vet Parasitol. 2003; 111(2-3):161-73. https://doi.org/10.1016/S0304-4017(02)00351-5

Hussaini N, Okuneye K, Gumel AB. Mathematical analysis of a model for zoonotic visceral leishmaniasis. Infect Dis Model. 2017; 2(4):455-74. https://doi.org/10.1016/j.idm.2017.12.002

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Agregados por Setores Censitários, Censo Demográfico 2010 [Acesso em 10 Jan 2018]. Disponível em: ftp://ftp.ibge.gov.br/Censos/Censo_Demografico_2010/Sinopse/Agregados_por_Setores_Censitarios/

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Cidades, Panorama. 2018a [Acesso em 10 Jan 2018]. Disponível em: https://cidades.ibge.gov.br/v4/brasil/sp/aracatuba/panorama

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Cidades, Birigui, Panorama. 2018b [Acesso em 10 Jan 2018]. Disponível em: https://cidades.ibge.gov.br/brasil/sp/birigui/panorama

INPE. Instituto de Pesquisas Espaciais. TerraView 4.2.2. 2017 [Acesso 21 de Mar 2018]. Disponível em: http://www.dpi.inpe.br/terraview

Kazimoto TA, Amora SSA, Figueiredo FB, Magalhães JME, Freitas YBN, Sousa MLR et al. Impact of 4% Deltamethrin-Impregnated Dog Collars on the Prevalence and Incidence of Canine Visceral Leishmaniasis. Vector-Borne and Zoonotic Diseases. 2018; 18(7). https://doi.org/10.1089/vbz.2017.2166

Lanotte G, Rioux JA, Periers J & Volhardt Y. Ecologie des leishmanioses dans le sud de la France. Les formes évolutives de la leishmaniose viscérale canine. Elaboration d'une typologie bio-clinique à finalité épidemiologique. Ann. Parasit. Hum. Comp. 1979; 54: 277-95.

Leite BMM, Solcà MdS, Santos LCS, Coelho LB, Amorim LDAF, et al. The mass use of deltamethrin collars to control and prevent canine visceral leishmaniasis: A field effectiveness study in a highly endemic area. PLoS Negl Trop Dis. 2018; 12(5): e0006496. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006496

Lindgren F, Rue H, Lindström J. An explicit link between Gaussian fields and Gaussian Markov random fields: the stochastic partial differentiation approach. J R Stat Soc. 2011; B73(4):423–98. Doi: 10.1111/j.1467-9868.2011.00777.x

Lopes EGP, Oviedo-Pastrana ME, Borges LFNM, Freitas ACP, Dias ES, Silva SR et al. Transmission of visceral leishmaniasis in dogs in a risk area of the metropolitan region of Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 2016; 68(6):1403-12. http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-8893

Lopes PM, Sorte ECB, Gasparetto ND, Oliveira CM, Almeida ABPF, Sousa VRF. Seroprevalence and risk factors associated with visceral leishmaniasis in dogs in Jaciara, State of Mato Grosso. Rev Soc Bras Med Trop. 2014; 47(6):791-5. http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0027-2014

Luz, ZMP. Participação da população na prevenção da leishmaniose visceral: como superar as lacunas? Cad Saude Publica. 2016; 32(6):eCO020616. https://dx.doi.org/10.1590/0102-311XCO020616

Marcondes M & Rossi CN. Leishmaniose visceral no Brasil. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. 2013; 50(5):341-52. http://dx.doi.org/10.11606/issn.2318-3659.v50i5p341-352

Marzochi MCA, Coutinho SG, Sabroza PC. Leishmaniose Visceral canina no Rio de Janeiro – Brasil. Cad Saude Publica. 1985; 1(4):432-46. http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X1985000400004

Mendonça IL. Testes para o diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina: Infecção e infectividade [tese].Piauí: Universidade Federal do Piauí; 2010.

Miró G, Petersen C, Cardoso L, Bourdeau P, Baneth G, Solano-Gallego L, Pennisi MG, Ferrer L, Oliva G. Novel areas for prevention and control of canine leishmaniosis. Trends in parasitology. 2017;33(9):718-30. http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2017.05.005

Missawa NA, Lorosa ES, Dias ES. Preferência alimentar de Lutzomyia longipalpis (Lutz & Neiva, 1912) em área de transmissão de leishmaniose visceral em Mato Grosso. Rev Soc Bras Med Trop. 2008; 41(4): 365-8. https://dx.doi.org/10.1590/S0037-86822008000400008

Morais MHF. Avaliação das atividades de controle da leishmaniose visceral na Regional Noroeste de Belo Horizonte, 2006 a 2010 [tese]. Minas Gerais: Universidade Federal de Minas Gerais; 2011.

Morais MHF, Fiuza VOP, Araújo VEM, Menezes FC, Carneiro M. Avaliação das atividades de controle da leishmaniose visceral em Belo Horizonte, Minas Gerais, 2006-2011. Epidemiol. Serv. Saude. 2015;24(3):485-96. http://dx.doi.org/10.5123/S1679-49742015000300014

Nicolle C & Comte C. Origine du Kala azar. Comptes Rendues de l´Academie des Sciences de Paris. 1908; 146:789.

Nishiura H. Mathematical and statistical analyses of the spread of dengue. Dengue Bulletin. 2006; 30: 51–67.

Nunes CM, Martines DA, Fikaris S, Queiroz LH. Avaliação da População Canina da Zona Urbana do Município de Araçatuba, São Paulo. Rev Saude Publica.1997; 31(3):308-9. http://dx.doi.org/10.1590/S003489101997000300013

Nunes CM, Lima VMF, Paula HB, Perri SHV, Andrade AM, Dias FEF et al. Dog culling and replacement in an area endemic for visceral leishmaniasis in Brazil. Vet Parasitol 2008;153:19-23. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.01.005

Nunes CM, Pires MM, Silva KM, Assis FD, Filho JG, Perri SHV. Relationship between dog culling and incidence of human visceral leishmaniasis in an endemic area. Vet Parasitol. 2010; 170: 131-3. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.01.044

Oliveira AM, Vieira CP, Dibo MR, Guirado MM, Rodas LAC, Chiaravalloti Neto F. Dispersal of Lutzomyia longipalpis and expansion of canine and humanvisceral leishmaniasis in São Paulo State, Brazil. Acta Tropica. 2016; 164(2016):233-42. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.09.014

Oliveira SS. Avaliação de estratégia otimizada para triagem e eliminação de cães no controle da Leishmaniose Visceral Humana [tese]. Bahia: Fundação Oswaldo Cruz; 2011.

Oliveira SS, Chig LA, Amarante CP, da Costa Carvalho A, Junior EVM, Carvalho LA S. Survey of Leishmaniasis Vectors in the City of Cuiabá. Uniciências. 2017; 21(1):17-20. http://dx.doi.org/10.17921/1415-5141.2017v21n1p17-20

Penaforte KM, Belo VS, Teixeira-Neto RG, Ribeiro RAN, de Oliveira RB, Schettini DA. Leishmania infection in a population of dogs. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 2013; 22(4):592-6. http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612013000400022

Pozio E, Grandote L, Betti S, Granita M. Leishmaniasis in Tuscany (Italy): VI. Canine leishmaniasis in the focus of Monte Argentario (Grosseto). Acta Trop. 1981; 38:383-93.

Quantum GIS Development Team. Quantum GIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. 2016 [Acesso em 20 Jan 2018]. Disponível em: http://qgis.osgeo.org

Quilez J, Martinez V, Woolliams JA, Sanchez A, Pong-Wong R, Kennedy LJ et al. Genetic control of canine leishmaniasis: genome-wide association study and genomic selection analysis. Plos One. 2012; 7(4):e35349 https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035349

R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing, Vienna, Austria 2017 [Acesso em 20 Jan 2018]. Disponível em: https://www.r-project.org/

Ripley BD. Spatial statistics. New York: John Wiley & Sons; 1981.

Rodrigues ACM, Melo ACFL, Júnior ADS, Franco SO, Rondon FCM, Bevilaqua CML. Epidemiologia da leishmaniose visceral no município de Fortaleza, Ceará. Pesq. Vet. Bras. 2017; 37(10):1119-24. http://dx.doi.org/10.1590/s0100-736x2017001000013

Romero GAS. O controle de leishmaniose visceral no Brasil: transformar é preciso. Cad Saude Publica. 2016; 32(6): eCO010616. https://dx.doi.org/10.1590/0102-311XCO010616

Rosales JC & Yang HM. Modelagem matemática do fator de risco da leishmaniose canina na leishmaniose humana em regiões oeste do Estado de São Paulo, Brasil, e noroeste da província de Salta, Argentina. BEPA 2006, ISSN 1806-4272.

Rubin DB. Multiple Imputation for Nonresponse in Surveys. New York: John Wiley & Sons; 1987.

Rue H, Martino S, Chopin N. Approximate Bayesian inference for latent Gaussian models by using integrated nested Laplace approximations. J Roy Stat Soc B. 2009;71(2):319-92. https://doi.org/10.1111/j.1467-9868.2008.00700.x

Sallum PC, Almeida MF & Massad E. Rabies seroprevalence of street dogs from São Paulo City, Brazil. Prev Vet Med. 2000; 44(3-4): 131-9. https://doi.org/10.1016/S0167-5877(00)00110-0

Salomón OD, Feliciangeli MD, Quintana MG, Afontos MMS, Rangel EF. Lutzomyia longipalpis urbanisation and control. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 2015; 110(7):831-46. http://dx.doi.org/10.1590/0074-02760150207

SES. Secretaria de Estado da Saúde (SP), Superintendência de Controle de Endemias - SUCEN e Coordenadoria de Controle de Doenças - CCD. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral Americana do Estado de São Paulo. São Paulo; 2006 [Acesso em 10 Jan 2018]. Disponível em: ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/zoo/lva06_manual.pdf. Accessed 25 Jan 2017.

Sevá AP, Ovallos FG, Amaku M, Carrillo E, Moreno J, Galati EA, et al. Canine-based strategies for prevention and control of visceral leishmaniasis in Brazil. PloS one. 2016; 11(7):e0160058. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160058

Shimozako HJ, Wu J, Massad E. The Preventive Control of Zoonotic Visceral Leishmaniasis Efficacy and Economic Evaluation. Comput Math Methods Med. 2017a; 2017:4797051. https://doi.org/10.1155/2017/4797051

Shimozako HJ, Wu J, Massad E. Mathematical modelling for Zoonotic Visceral Leishmaniasis dynamics: A new analysis considering updated parameters and notified human Brazilian data. Infect Dis Model. 2017b; 2(2):143-60. https://doi.org/10.1016/j.idm.2017.03.002

Silva RA, Andrade AJ de, Quint BB, Raffoul GES, Werneck GL, Rangel EF, Romero GAS. Effectiveness of dog collars impregnated with 4% deltamethrin in controlling visceral leishmaniasis in Lutzomyia longipalpis (Diptera: Psychodidade: Phlebotominae) populations. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2018; 113(5): e170377. https://dx.doi.org/10.1590/0074-02760170377

Silva STP, Marques LDFV, Lamounier KCC, Castro JM, Borja-Cabrera GP. Leishmaniose visceral humana: reflexões éticas e jurídicas acerca do controle do reservatório canino no Brasil. Rev Bio y Der. 2017; 39:135-51. ISSN 1886-5887.

SINAN. Sistema de Informação de Agravos de Notificação. Casos confirmados por Ano Notificação segundo Município de residência 350280 Araçatuba, 2007-2015. Ministério da

Saúde. Scretaria de Vigilância em Saúde. [Acesso em 10 Jan 2018]. Disponível em: http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/leishvsp.def

Solano-Gallego L, Koutinas A, Miró G, Cardoso L, Pennisi MG, Ferrer L, et al. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniasis. Vet Parasitol. 2009; 165(1):1-18. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.05.022

Souza VMM, Julião FS, Neves RCS, Magalhães PB, Bisinotto TV, Lima AS, et al. Ensaio comunitário para avaliação da efetividade de estratégias de prevenção e controle da leishmaniose visceral humana no Município de Feira de Santana, Estado da Bahia, Brasil. Epidemiol. Serv. Saude. 2008; 17(2):97-106. https://dx.doi.org/10.5123/S1679-49742008000200003

Teixeira-Neto RG, da Silva ES, Nascimento RA, Belo VS, de Oliveira CDL, Pinheiro LC, et al. Canine visceral leishmaniasis in an urban setting of southeastern Brazil: an ecological study involving spatial analysis. Parasit Vectors. 2014; 7:485. https://doi.org/10.1186/s13071-014-0485-7

Teles APS, Herrera HM, Ayres FM, Brazuna JCM, Abreu UGP. Fatores de Risco Associados à Ocorrência da Leishmaniose Visceral na Área Urbana do Município de Campo Grande/MS. Hygeia: Rev. Bras Geo Med Saúde. 2015;11(21):35-48

Ursine RL, Dias JVL, Morais HA, Pires HHR. Human and canine visceral leishmaniasis in an emerging focus in Araçuaí, Minas Gerais: spatial distribution and socio-environmental factors. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 2016;111(8):505-11. http://dx.doi.org/10.1590/0074-02760160133

Vieira CP, Oliveira AM, Rodas LAC, Dibo MR, Guirado MM, Chiaravalloti Neto F. Temporal, spatial and spatiotemporal analysis of the occurrence of visceral leishmaniasis in humans in the City of Birigui, State of São Paulo, from 1999 to 2012. Rev Soc Bras Med Trop. 2014; 47(3):350-8. http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0047-2014

Werneck GL. Visceral leishmaniasis in Brazil: rationale and concerns related to reservoir control. Rev Saude Publica. 2014; 48(5):851-5. http://dx.doi.org/10.1590/S0034-8910.2014048005615

Werneck GL. Controle da leishmaniose visceral no Brasil: o fim de um ciclo? Cad. Saude Publica, Rio de Janeiro. 2016; 32(6):eED010616. http://dx.doi.org/10.1590/0102-311X00ED010616

WHO. World Health Organization. Leishmaniasis, Epidemiological situation. 2017 [Acesso em 20 Jan 2018]. Disponível em: http://www.who.int/leishmaniasis/burden/en/

Zuben APBV & Donalísio MR. Dificuldades na execução das diretrizes do Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral em grandes municípios brasileiros. Cad. Saude Publica. 2016; 32(6):e00087415. http://dx.doi.org/10.1590/0102311X00087415

Zuur AF, Leno EN, Elphick CS. A protocol for data exploration to avoid common statistical problems. Methods in Ecology and Evolution. 2010; 1:3-14. Doi: https://doi.org/10.1111/j.2041-210X.2009.00001.x

ANEXO I: QUESTIONÁRIO SOBRE HÁBITOS E MOBILIDADE DO CÃO

Área/Setor: Quadra: Codend:

1. N° da ficha:_____

2.1 Cão domiciliado ( ) 2.2 Cão semidomiciliado ( )

3. Nome do proprietário:_____

4. Endereço:_____

5. Telefone ( )_____

6. Teve um cão que morreu nos últimos 6 meses:

6.1 Não teve( ) 6.2 Morte natural( ) 6.3 Sacrificado( ) 6.4 Morte por motivo de _____

Característica do domicílio

7. Há quanto tempo mora no domicílio? _____

8. Quantas pessoas moram no domicílio? _____

9. Quantos cômodos tem o domicílio?_____

10.1 Casa sem quintal ( ) 10.2 Casa com quintal de com grama ou canteiro ( )

10.3 Casa com quintal de piso ( )

11. Galinheiro na residência: 11.1 Sim ( ) 11.2 Não ( )

12. Quantos cães já teve no domicílio nos últimos 10 anos? _____

13. Outros animais no domicílio: 13.1 Sim ( ) 13.2 Não ( )

14. Quantos outros animais no domicílio e qual espécie? _____

15. Algum de seus vizinhos tem galinheiro 15.1 Sim ( ) 15.2 Não ( ) 15.3 Não sei ( )

16. Algum de seus vizinhos tem quintal de grama 16.1 Sim ( ) 16.2 Não ( ) 16.3 Não sei ( )

17. Há algum parque ou área verde próximo? 17.1 Sim ( ) 17.2 Não ( ) 17.3 Não sei ( )

Identificação do cão

1-SRD 2-Akita Inu 3-Basset/Teckel dachushund 4-Beagle 5-Boxer 6-Cocker Spaniel 7-Clollie 8-Dálmata 9-Dobermann 10-Dogue Alemão 11-Fila Brasileiro 12-Fox Brasileiro/Fox Terrier 13-Husky Siberiano 14-Labrador 15-Pastor Alemão 16-Pequinês 17-Pinscher 18-Pitbull 19-Poodle 20-Rottweiler 21-Yorkshire Terrier 22-outros

18. Nome_____

19. Raça_____

20. Idade estimada _____

21. Sexo: 21.1 F( ) 21.2 M ( )

22. Pelo: 22.1 Curto ( ) 22.2 Longo ( )

23. Porte/Tamanho: 23.1 Pequeno ( ) 23.2 Médio ( ) 23.3 Grande ( )

24. Onde FICA o cão durante o dia: 24.1 Dentro de casa ( ) 24.2 Quintal ao relento ( ) 24.3 Quintal em um ambiente fechado ( ) 24.4 Não sei ( )

25. Onde DORME o cão durante a noite: 25.1 Rua ( ) 25.2 Quintal aberto ( ) 25.3 Abrigo fechado ( ) 25.4 Dentro de casa ( )

26. Como o cão foi adquirido: 26.1 Nasceu na casa ( ) 26.2 comprado ( ) 26.3 Doado por alguém da vizinhança ( ) 26.4 Doado por conhecido de outro local ( ) 26.5 Pego na Rua ( ) 26.6 Adotado – não da rua ( ) 26.7 Outros ( )

27. Tempo de posse: 27.1 Possui desde filhote ( ) 27.2 Adquiriu o animal adulto ( )

28.1 Data da última visita ao veterinário_____ 28.2 Motivo_____

29. Castrado: 29.1Sim ( ) 29.2 Não ( ) 29.3 Não sei ( )

30. Vacinado: 30.1Sim ( ) 30.2 Não ( ) 30.3 Não sei ( )

31. Vacinas: 31.1 V 10 ( ) 31.2 Gripe canina ( ) 31.3 Giardíase ( ) 31.4 Anti-rábica ( )

32. Quantos cães já teve nos últimos 10 anos? _____

33. Quantas vezes passeia: 33.1 Um vez por dia ( ) 33.2 Mais de uma vez por dia ( ) 33.3 Algumas vezes por semana ( ) 33.4 Não passeia ( ) 33.5 O cão passeia SEM o dono/Passeia sozinho ( )

34. Onde o cão Passeia: 34.1 Próximo a casa ( ) 34.2 Quarteirão ( ) 34.3 Praça ( ) 34.4 Não passeia ( )

35. Horário que passeia: 35.1 Manhã ( ) 35.2 Tarde ( ) 35.3 Noite ( ) 35.4 Não passeia ( )

36. Alimentação: 36.1 Só ração ( ) 36.2 Ração e + ( ) _____36.3Outros ( ) _____

Exame Clinico

37. Achatamento do crânio: 37.1 Sim ( ) 37.2 Não ( )

38. Emagrecimento: 38.1 Sim ( ) 38.2 Não ( )

39. Epistaxe: 39.1 Sim ( ) 41.2 Não ( )

40. Descamação: 40.1 Sim ( ) 40.2 Não ( )

41. Esplenomegalia: 41.1 Sim ( ) 41.2 Não ( )

42. Hiperqueratose: 42.1 Sim ( ) 42.2 Não ( )

43. Linfoadenopatia: 43.1 Sim ( ) 43.2 Não ( )

44. Hepatomegalia: 44.1 Sim ( ) 44.2 Não ( )

45. Onicogrifose: 45.1 Sim ( ) 45.2 Não ( )

46. Lesões: 46.1 Oculares ( ) 46.2 Mucosas ( )

47. Alopecia: 47.1 Periorbital ( ) 47.2 Localizada ( ) 47.3 Generalizada ( )

48. Erosões/Úlceras: 48.1 Não ( ) 48.2 Orelhas ( ) 48.3 Focinho ( )

49. Ectoparasitoses: 49.1 Sim ( ) 49.2 Não ( )

50. Outros agravos:_____

51. Médico Veterinário/Estagiário:_____

52. Data: _____/_____/201_

53. Período: 53.1 Manhã ( ) 53.1 Tarde ( ) 53.2 Noite ( )

ANEXO II: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do Projeto: **Avaliação das ações de controle da leishmaniose visceral canina nos municípios de Araçatuba e Birigui utilizando um modelo dinâmico da transmissão da doença.**

Este projeto tem o objetivo de avaliar as ações de controle do programa de leishmaniose visceral canina no município de Birigui. E seu animal reúne as características necessárias para participar do projeto de pesquisa acima citado. O documento abaixo contém todas as informações necessárias sobre a pesquisa na qual seu animal **estará envolvido**. Leia atentamente. Caso tenha dúvidas, teremos prazer em esclarecê-las. A qualquer momento se o(a) Sr./Sr.a quiser poderá desistir de participar e isso não causará nenhum prejuízo ao Sr./Sr.a nem ao seu animal. Caso concorde, o documento deverá ser assinado, e só então daremos início ao estudo. A **participação de seu animal** neste estudo será de grande valor para ampliarmos os conhecimentos sobre a leishmaniose visceral, uma doença grave em cães e que pode ser transmitida aos humanos.

Caso o(a) Sr./Sr.a concorde em participar, um veterinário irá ao seu domicílio e fará um diagnóstico clínico no seu cão, avaliando o estado de saúde do animal. Também será testada, em laboratório, uma **amostra de sangue de 3 ml** a fim de verificar se seu cão apresenta a doença. Informamos que mesmo se seu cão não apresentar sintomas, mas estiver infectado pela doença, ainda poderá transmitir o parasita a outros cães e a humanos. Por isso é importante colher uma amostra de sangue para posterior diagnóstico sorológico. Também será necessário o preenchimento, pelo(a) Sr./Sr.a de um questionário sobre os hábitos e características do cão participante. Certificamos que durante a execução do projeto os cães e o(a) Sr./Sr.a serão submetidos apenas a **riscos mínimos**.

O resultado do exame sorológico será entregue em sigilo e confidencialidade ao Sr./Sr.a. Caso o cão do(a) Sr./Sr.a apresentar diagnóstico sorológico positivo o(a) Sr./Sr.a, conforme a legislação, será aconselhado(a) a realizar uma nova avaliação do cão no centro de controle de zoonoses para então o(a) Sr./Sr.a decidir o que será feito com seu animal. Contudo, não informaremos a mais ninguém se seu cão estiver doente. A prevalência da leishmaniose visceral canina nas áreas participantes deste projeto de pesquisa será revelada apenas como um dado geral, sem identificar os domicílios onde esses cães moram. Ressaltamos que este é um trabalho complementar e independente das atividades do programa de controle da leishmaniose visceral canina.

Após ler e receber explicações sobre a pesquisa, e ter meus direitos de:

1. Receber resposta a qualquer pergunta e esclarecimento sobre os procedimentos, riscos, benefícios e outros relacionados à pesquisa;

2. Receber uma via deste termo de consentimento livre e esclarecido, conforme resolução 466/12.

3. Tenho a liberdade de desistir ou de interromper a colaboração neste estudo no momento em que desejar, sem necessidade de qualquer explicação;

4. A desistência não causará nenhum prejuízo à mim nem a meu animal;

5. Será feita uma coleta de 3ml. de sangue, no momento da abordagem no domicílio pela equipe designada pelo projeto;

6. Essa coleta será feita apenas para este estudo; nenhum dos procedimentos causará qualquer tipo de dano à saúde de meu animal, e todos os procedimentos serão realizados sob supervisão de um médico veterinário;

7. A participação neste projeto não tem fins terapêuticos, nem terá custo algum para mim;

8. Concordo que os resultados deste estudo sejam divulgados em publicações científicas, desde que nem meu nome, nem o de meu animal, sejam mencionados.

9. Procurar esclarecimentos com o Comitê de Ética em Pesquisa com animais da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP, em caso de dúvidas ou notificação de acontecimentos não previstos.

Declaro estar ciente do exposto e desejar participar de livre e espontânea vontade do projeto de pesquisa.

Birigui/São Paulo, _____de_____ de _____.

Raça do animal:_____Sexo:_____

Nome do participante:_____RG:_____

_____

Proprietário responsável pelo animal

_____

Nome / RG / Telefone da Testemunha 1

_____

Pesquisador responsável: Danielle N. C. C. Costa

_____

Orientador: Francisco Chiaravalloti Neto

Data:___/____/____

ANEXO III: APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA FACULDADE DE SAÚDE PÚBLICA.

FACULDADE DE SAÚDE PÚBLICA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação das ações de controle da leishmaniose visceral canina nos municípios de Araçatuba e Birigui utilizando um modelo dinâmico da transmissão da doença

Pesquisador: Danielle Castro
Área Temática:
Versão: 2
CAAE: 38170514.4.0000.5421
Instituição Proponente: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo - FSP/USP
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 892.518
Data da Relatoria: 11/12/2014

Apresentação do Projeto:
Inalterado

Objetivo da Pesquisa:
Inalterado

Avaliação dos Riscos e Benefícios:
Inalterados

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:
Nada a acrescentar

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:
Havia necessidade de ajustar o TCLE quanto à linguagem, bem como acrescentar fonte de financiamento do projeto.

Recomendações:
As prévias recomendações foram integralmente acatadas.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:
Adequado para aprovação uma vez que atendeu às pendências.

Continuação do Parecer: 892.518

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

Considerações Finais a critério do CEP:
Acatado parecer do relator pela aprovação

SAO PAULO, 01 de Dezembro de 2014

Assinado por:
Sandra Roberta Gouvea Ferreira Vivolo

Endereço: Av. Doutor Arnaldo, 715
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 01.246-904
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3061-7779 **Fax:** (11)3061-7779 **E-mail:** coep@fsp.usp.br

ANEXO IV: APROVAÇÃO DO CEUA – FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA UNESP/ARAÇATUBA

unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

ceua unesp araçatuba

CAMPUS ARAÇATUBA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

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

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado **"Avaliação das ações de controle de Leishmaniose visceral canina nos municípios de Araçatuba e Birigui utilizando um modelo dinâmico da transmissão da doença"**, Processo FOA nº 2015-00170, sob responsabilidade de Cáris Maroni Nunes apresenta um protocolo experimental de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal e sua execução foi aprovada pela CEUA em 25 de março de 2015.

VALIDADE DESTE CERTIFICADO: 01 de Março de 2016.
DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL: até 01 de Abril de 2016.

CERTIFICATE

We certify that the study entitled **"Survey of American visceral Leishmaniasis control's actions in Araçatuba and Birigui cities using dynamic´s transmission models"**, Protocol FOA nº 2015-00170, under the supervision of Cáris Maroni Nunes presents an experimental protocol in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation and its implementation was approved by CEUA on March 25, 2015.

VALIDITY OF THIS CERTIFICATE: March 01, 2016.
DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT: April 01, 2016.

Profa. Dra. Maria Gisela Laranjeira
Coordenadora da CEUA
CEUA Coordinator

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba
Rua José Bonifácio, 1193 – Vila Mendonça - CEP: 16015-050 – ARAÇATUBA – SP
Fone (18) 3636-3234 Email CEUA: ceua@foa.unesp.br

ANEXO V: COMPROVANTE DE ACEITE DE MANUSCRITO PELA REVISTA DE SAÚDE PÚBLICA

São Paulo, 09 de janeiro de 2018

Dear Dr. Costa:

It is a pleasure to **accept** your manuscript entitled "Leishmaniose visceral em humanos e relação com medidas de controle vetorial e canino" in its current form for publication in the Revista de Saúde Pública. The comments of the reviewer(s) who reviewed your manuscript are included at the foot of this letter.

Thank you for your fine contribution. On behalf of the Editors of the Revista de Saúde Pública, we look forward to your continued contributions to the Journal.

Sincerely,
Dr. Eliseu Alves Waldman

Associate Editor, Revista de Saúde Pública

eawaldma@usp.br

ANEXO VI: COMPROVANTE DE ACEITE DE MANUSCRITO PELA BMC VETERINARY RESEARCH

From: **BMC Veterinary Research Editorial Office** <em@editorialmanager.com>
Date: 20 July 2018 at 11:58

Subject: Decision on your Submission to BMC Veterinary Research - BVET-D-18-00196R2
To: Francisco Chiaravalloti-Neto <franciscochiara@usp.br>

BVET-D-18-00196R2
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
Danielle Nunes Carneiro Castro Costa; Marta Blangiardo; Lilian Aparecida Colebrusco Rodas; Caris Maroni Nunes; Roberto Mitsuyoshi Hiramoto; Jose Eduardo Tolezano; Lucas Xavier Bonfietti; Patricia Marques Moralejo Bermudi; Rafael Silva Cipriano; Graziela Candido Diniz Cardoso; Claudia Torres Codeço; Francisco Chiaravalloti-Neto, Ph.D

Dear Mr. Chiaravalloti-Neto,

I am pleased to inform you that your manuscript "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" (BVET-D-18-00196R2) **has been accepted** for publication in BMC Veterinary Research.

If any final comments have been submitted from our reviewers or editors, these can be found at the foot of this email for your consideration.

Before publication, our production team will also check the format of your manuscript to ensure that it conforms to the standards of the journal. They will be in touch shortly to request any necessary changes, or to confirm that none are needed.

Please do not hesitate to contact us if you have any questions regarding your manuscript and I hope that you will consider BMC Veterinary Research again in the future.

If you wish to co-submit a data note to be published in BMC Research Notes (https://bmcresnotes.biomedcentral.com/about/introducing-data-notes) you can do so by visiting our submission portal http://www.editorialmanager.com/resn/. Data notes support open data (https://www.springernature.com/gp/open-research/open-data) and help authors to comply with funder policies on data sharing. Please note that this additional service is entirely optional.

Best wishes,

Amber West

BMC Veterinary Research

https://bmcvetres.biomedcentral.com/

ANEXO VII: CURRÍCULO LATTES DANIELLE N C C COSTA

Danielle Nunes Carneiro Castro Costa

Endereço para acessar este CV: http://lattes.cnpq.br/8707465670173881
Última atualização do currículo em 26/07/2018

Atualmente aluna de doutorado da FSP - USP e trabalhando com avaliação das estratégias de controle da leishmaniose visceral. Biomédica formada pela Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro. Mestre pelo programa de Mestrado em Epidemiologia em Saúde Pública subárea DoençasTransmissíveis na ENSP - Fiocruz. **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome	Danielle Nunes Carneiro Castro Costa
Nome em citações bibliográficas	CARNEIRO, D. N.;COSTA, DANIELLE N. C. C.

Endereço

Formação acadêmica/titulação

2014	Doutorado em andamento em Pós-Graduação em Saúde Pública. Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: Avaliação das ações de controle da leishmaniose visceral canina nos municípios de Araçatuba e Birigui utilizando um modelo dinâmico da transmissão da doença. Orientador: Francisco Chiaravalloti Neto. Coorientador: Cláudia Torres Codeço. Palavras-chave: Leishmaniose Visceral; dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias. Grande área: Ciências da Saúde Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Saúde Coletiva / Subárea: Epidemiologia. Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Saúde Coletiva / Subárea: Modelagem Matemática.
2010 - 2012	Mestrado em Epidemiologia em Saúde Pública. Escola Nacional de Saúde Pública, ENSP, Brasil. Título: Avaliação da eliminação canina como estratégia de controle da Leishmaniose Visceral Canina a partir de modelos teóricos da dinâmica de transmissão da doença.,Ano de Obtenção: 2012. Orientador: Cláudia Torres Codeço. Bolsista do(a): Escola Nacional de Saúde Pública, ENSP, Brasil. Palavras-chave: epidemiologia; Modelagem Matemática; Leishmaniose Visceral. Grande área: Ciências da Saúde Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Saúde Coletiva / Subárea: Epidemiologia.
2009 - 2009	Aperfeiçoamento em Curso de Epidemiologia Clínica das DIPs. (Carga Horária: 360h). Instituto Oswaldo Cruz - Fiocruz, IOC, Brasil. Título: s/ monografia. Ano de finalização: 2009. Orientador: José Rodrigues Coura.
2004 - 2008	Graduação em bacharelado em ciências Biológicas-Mod. Médica. Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, UNIRIO, Brasil. Título: AVALIAÇÃO QUALITATIVA DE ENTEROPARASITOSES EM CRIANÇAS E FUNCIONÁRIOS DAS CRECHES DONA MARCELA E BABYLÔNIA, QUE ATENDEM AS COMUNIDADES DOS MORROS DO CHAPÉU MANGUEIRA E BABILÔNIA, RIO DE JANEIRO - BRASIL.. Orientador: Marcello Xavier Sampaio.

ANEXO VIII: CURRÍCULO LATTES FRANCISCO CHIARAVALLOTI NETO

Francisco Chiaravalloti Neto

Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq - Nível 2

Endereço para acessar este CV: http://lattes.cnpq.br/9465571695962929
Última atualização do currículo em 24/07/2018

Possui graduação em Engenharia pela Escola Politécnica da USP (1981), especialização (1985), mestrado (1993) e doutorado (1999) em Saúde Pública pela Faculdade de Saúde Pública da USP (FSP-USP). Obteve, em 2010, o título de Livre Docência pela FSP-USP. É Professor Associado do Departamento de Epidemiologia da FSP-USP. Desenvolve, projetos de pesquisa na área de Epidemiologia de Doenças Transmissíveis e, em especial, as de Agentes Transmitidos por Vetores e na área de Análise Espacial em Saúde. É cadastrado com orientador nos Programas de Pós-Graduação em Saúde Pública, Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia e no Programa de Pós-Graduação em Entomologia em Saúde Pública (Mestrado Profissional), todos na FSP-USP. **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome	Francisco Chiaravalloti Neto
Nome em citações bibliográficas	CHIARAVALLOTI NETO, F.;Chiaravalloti-Neto, Francisco;Chiaravalloti Neto, Francisco;NETO, FRANCISCO;NETO, FRANCISCO CHIARAVALLOTI;Francisco Chiaravalloti Neto;Neto FC;Francisco Chiaravalotti Neto;CHIARAVALOTTI NETO, FRANCISCO;NETO, F. C.

Endereço

Endereço Profissional	Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, Departamento de Epidemiologia. Av. Dr. Arnaldo, 715 01246-904 - Sao Paulo, SP - Brasil Telefone: (11) 30617920

Formação acadêmica/titulação

1994 - 1999	Doutorado em Saúde Pública (Conceito CAPES 6). Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: Epidemiologia da dengue nas Regiões de São José do Rio Preto e Araçatuba, São Paulo, 1990 a 1996., Ano de obtenção: 1999. Orientador: Prof Dr. José Maria Soares Barata. Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, Brasil. Grande área: Ciências da Saúde
1988 - 1993	Mestrado em Saúde Pública (Conceito CAPES 6). Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: Aedes aegypti na Região de São José do Rio Preto, Estado de São Paulo,Ano de Obtenção: 1993. Orientador: Prof Dr. Helena Aparecida dos Santos Lima Pereira. Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, Brasil. Palavras-chave: Aedes aegypti; Vetores; Ecologia. Grande área: Ciências da Saúde Setores de atividade: Saúde Humana.
1985 - 1985	Especialização em Engeharia de Saúde Pública. Universidade de São Paulo, USP, Brasil.
1976 - 1981	Graduação em Engenharia Civil. Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

Livre-docência

2010	Livre-docência. Faculdade de Saúde Pública, FSP, Brasil. Título: Estudo da ocorrência de dengue em cidade de porte médio do estado de São Paulo, Ano de obtenção: 2010. Palavras-chave: dengue; Epidemiologia; Análise Espacial.