

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO – UFOP
NÚCLEO DE PESQUISAS EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – NUPEB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**“Efetividade da coleira impregnada com deltametrina na redução
da incidência da Leishmaniose Visceral Canina”**

GLEISIANE GOMES DE ALMEIDA LEAL

Ouro Preto – 2017

Gleisiane Gomes de Almeida Leal

“Efetividade da coleira impregnada com deltametrina na redução da incidência da Leishmaniose Visceral Canina”

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas do Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas, como exigência para obtenção do grau de Doutor em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Ouro Preto, na área de concentração de Imunobiologia de Protozoários.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Barbosa Reis

Co-orientador: Prof. Dr. Wendel Coura Vital

Ouro Preto – 2017

L435e

Leal, Gleisiane Gomes de Almeida .

Efetividade da coleira impregnada com deltametrina na redução da incidência da leishmaniose visceral canina [manuscrito] / Gleisiane Gomes de Almeida Leal. - 2017.

120f.: il.: color; grafs; tabs; mapas; quadro.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Barbosa Reis.

Coorientador: Prof. Dr. Wendel Coura-Vital.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Ouro Preto. Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação. Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas.

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas.

Área de Concentração: Imunobiologia de Protozoários.

1. Leishmaniose visceral. 2. Medicamentos - Utilização - Deltametrina. 3. Fatores de risco. 4. Efetividade. I. Reis, Alexandre Barbosa. II. Coura-Vital, Wendel. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU: 577.27:561.24

Catálogo: www.sisbin.ufop.br



Ata da Banca Examinadora de Defesa de Tese Intitulada:

“Avaliação da efetividade da coleira impregnada com deltametrina no controle da Leishmaniose Visceral Canina”.

Aos vinte e sete dias do mês de abril de 2017, às 14 horas, no Auditório do NUPEB da Universidade Federal de Ouro Preto, reuniu-se a Comissão Examinadora da Tese da aluna Gleisiane Gomes de Almeida Leal. A defesa da tese iniciou-se pela apresentação oral feita pela candidata e, em seguida, arguição pelos membros da banca. Ao final, os membros da banca examinadora reuniram-se e decidiram por APROVAR a candidata. A concessão do título está condicionada ao cumprimento das demais exigências previstas no Regimento deste Programa.

Membros da Banca Examinadora:

Prof.ª Dr.ª Marta de Lana -
Examinadora (UFOP)

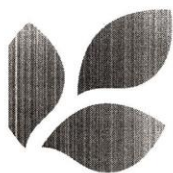
Prof. Dr. George Luiz Lins Machado
Coelho - Examinador (UFOP)

Prof.ª Dr.ª Vera Lúcia Fonseca de
Camargo Neves
Examinadora (USP)

Prof. Dr. Ricardo Andrade Barata
Examinador (Univ. Fed. dos Vales
Jequitinhonha e Mucuri)

Prof. Dr. Alexandre Barbosa Reis (UFOP)

DATA DA DEFESA: **27/04/2017**



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

NUPEB - Bloco I / Universidade Federal de Ouro Preto Campus Universitário
Morro do Cruzeiro / CEP 35.400-000 - Ouro Preto - MG - Brasil Tel: 55 (31) 3559-1681
E-mail: cbiol@nupeb.ufop.br / www.nupeb.ufop.br/cbiol

Aos meus pais,
Antonio Carlos Leal dos Santos e Débora de Almeida Santos.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

(Martin Luther King)

Inicialmente a Deus, pela onipotência e onipresença em minha existência, iluminando meu caminho e dando-me forças para vencer mais esta batalha. Por proporcionar o dom da vida e da sabedoria, para que eu possa utilizar meus conhecimentos em prol do homem e dos animais.

Aos meus amados pais, Carlos e Débora, sempre de braços abertos com todo o amor, carinho, respeito, compreensão e dignidade, que me ensinou a sonhar, lutar e alcançar meus objetivos. Por dar todo suporte nas decisões difíceis e sempre orientando a seguir o rumo certo. Sem eles nada disso seria concretizado.

Ao meu irmão Mateus, cunhada Gabriella e sobrinho Miguel por fazerem parte da minha vida.

Aos meus avós, Sebastião e Zilda, pelos seus sábios ensinamentos e pelo afeto, bondade e atenção.

À minha família que sempre me ajudaram nessa jornada.

Ao Calebe pela presença constante nessa fase, sempre com ternura, dedicação, compreensão e apoio.

Aos amigos de Governador Valadares que mesmo distantes, torceram sempre por mim, os tenho guardados comigo.

Ao meu orientador Alexandre Barbosa Reis por abrir as portas e me oferecer a chance de engrandecer profissionalmente e compartilhar seu grande conhecimento. Pela imensa contribuição na minha formação científica e profissional. Muito obrigada por tudo, pelas várias oportunidades, compreensão e principalmente por me oferecer o privilégio de participar deste grupo de pesquisa. Exemplo de dedicação e comprometimento com a academia e ciência. Serei eternamente grata por tudo isto.

Ao meu co-orientador Dr. Wendel Coura Vital por estar sempre presente, sua enorme ajuda, paciência, opiniões e conselhos fizeram com que tudo se tornasse mais fácil. Meu sincero agradecimento pela contribuição em todas as etapas deste trabalho e por toda base fornecida ao longo desta caminhada, que foram fundamentais no meu desenvolvimento científico e

amadurecimento profissional. Obrigada por seu apoio e exemplo que sem dúvida sempre levarei comigo.

À Ms. Aimara Costa Pinheiro por sua disponibilidade, dedicação e atenção. Seu exemplo profissional foi e sempre será muito importante para mim, com ela aprendi os primeiros passos da vida profissional. Este projeto só foi realizado de forma grandiosa pois estava aos seus cuidados, constatemente fornecendo todo apoio junto com a equipe de funcionários do Centro de Controle de Zoonoses de Governador Valadares. Minha eterna e imensa gratidão. Muito obrigada.

À Dra. Cláudia Martins Carneiro por todos os momentos de aprendizado, por toda dedicação ao laboratório de Imunopatologia/NUPEB e pela agradável companhia ao longo desta etapa.

Aos alunos de iniciação Juliana e Luiz, pelo apoio e auxílio nas digitações e revisões dos questionários e fichas dos animais. Minha enorme gratidão.

A todos os amigos do laboratório de Imunopatologia – LIMP: Jamile, Fernando, Levi, Henrique, Rory, Carlos, João, Rodrigo, Narjara, Élcio, Thaís, Bruno, Kátia, Paula, Flávia M., Luiza, Taís, Lívia, Léo e os demais, pelo convívio sempre agradável, pela amizade e companheirismo, pelo apoio e atenção; agradeço em especial a Carolzinha, por ouvir minhas lamurias e por ser sempre muito prestativas e amiga, muitíssimo obrigada por tudo que fez e sempre faz por mim.

Aos funcionários Maria, Luciana, Josefa, Lúcia, João Vitor, Ilmázio e Rosária do Laboratório de Imunopatologia/NUPEB, por colaborar na conservação da ordem diária, contribuindo para o bom funcionamento diante das diversas atividades desempenhadas no nosso laboratório e pela amizade.

Aos funcionários do NUPEB, CIPHARMA e UFOP por toda atenção e suporte fornecido.

Às amigas Nathália, Aline, Mariana, Tânia, Lucilene, Viviane, Dani, Luana, Mayane, Ludmilla, Natália, Vivian, Emília, Maycon e demais amigos pela amizade e apoio.

Aos amigos do CCZ - Governador Valadares, em especial Aimara, José Batista, Rose, Eliane, Sueli, Geraldo, Ozimar, Neuza e demais trabalhadores envolvidos pelo total apoio e realização deste projeto, além do incentivo e amizade.

Ao Ministério da Saúde pelo fornecimento da coleira para realizar este projeto.

À Secretaria de Saúde do Estado, Secretaria Municipal de Saúde e à Prefeitura Municipal de Governador Valadares pelo total apoio e suporte para a realização deste projeto.

À toda população de Governador Valadares estudada por toda receptividade e colaboração com o projeto. E aos seus cães por participarem do estudo.

E a todos os que, direta ou indiretamente, tenham colaborado na construção desse grande castelo que é o saber, deixo um saudoso, sincero e eterno obrigado por nossas vidas terem se cruzado e somado lembranças inesquecíveis, amizades eternas e uma imensa realização científica e pessoal. Muito obrigada a todos vocês.

CCZ - Centro de Controle de Zoonoses

CD - Cluster of differentiation

CD5 - Marcador de superfície celular de linfócitos T

CD4 - Marcador de superfície celular da subpopulação de linfócitos T auxiliares/indutores

CD8-Marcador de superfície celular da subpopulação de linfócitos T citotóxico/supressores

CD21 - Marcador de superfície celular de linfócitos B

CFMV - Conselho Federal de Medicina Veterinária

DDT - Diclorodifeniltricloroetano

DPP® - Duo Path Plataform

EF - Efetividade

ELISA - Ensaio imunoenzimático (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

FML - Fucose-manose ligando

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IC- Intervalo de confiança

IFN- γ - Interferon-gama

IgG - Imunoglobulina da classe G

IgG1- Imunoglobulina da subclasse G1

IgG2- Imunoglobulina da subclasse G2

IL-10 - Interleucina 10

IL-12 - Interleucina 12

LC – Leishmaniose cutânea

LCD – Leishmaniose cutânea difusa

LCM – Leishmaniose cutânea mucosa

LV - Leishmaniose visceral

LVC - Leishmaniose visceral canina

LVH - Leishmaniose visceral humana

MS - Ministério da Saúde

OMS - Organização Mundial de Saúde

PVC-LV - Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral

PMGV – Prefeitura Municipal de Governador Valadares

PVC - Cloreto de polivinilclorido

RIFI - Reação de imunofluorescência indireta

SFM - Sistema Fagocítico Mononuclear

SUCAM – Superintendência de Campanhas de Saúde Pública

SMS - Secretaria Municipal de Saúde

WHO - World Health Organization

A leishmaniose visceral (LV) é uma zoonose que se encontra em grande expansão no Brasil. A doença tem como principal vetor o *Lutzomyia longipalpis* e como reservatório o cão. Uma das medidas empregadas pelo Programa de Vigilância e Controle da LV no Brasil é a eutanásia de cães sororeativos. Diante disto, é essencial buscar outras estratégias para evitar a eutanásia de cães e conter a expansão da doença. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a efetividade da coleira impregnada com deltametrina na redução da incidência de infecção canina por *L. infantum*. Neste sentido, foi realizado um estudo de intervenção não randomizado em cães da área urbana, de elevada endemicidade do município de Governador Valadares localizado no leste do estado de Minas Gerais. Durante a linha de base do estudo foram avaliados 5.851 cães e a taxa de prevalência de leishmaniose visceral canina (LVC) foi de 21,9% (IC95% 21,0-23,1). Os animais soronegativos foram elegíveis para participação no estudo [n=3.797 (1.866 no grupo coleira e 1.931 no sem coleira)]. Os proprietários dos cães responderam a um questionário contendo informações sobre condições socioeconômicas, de moradia, do peridomicílio e sobre o comportamento do animal. A incidência da infecção canina nos grupos avaliados após 12 meses foi de 5,5/1000 cães/mês na área com coleira e 13,2/1000 cães/mês na área sem coleira. A efetividade da coleira na redução da incidência da infecção após 12 meses foi de 50,8% quando analisada por intenção de tratar. Já por protocolo, a incidência foi de 5,1 e 13,2 cães/mês nas áreas coleira e sem coleira, respectivamente, com uma efetividade de 61,4%. Já através do modelo de Cox a efetividade analisada por intenção de tratar foi de 50% ajustado pelas variáveis presença de folhas no quintal; onde o cão fica: quintal/canil/casinha/outros lugares; se o cão foge para rua e usa shampoo contra pulgas e carrapatos e 60% ajustada por presença de folhas no quintal; presença de outros animais; moradores com escolaridade do ensino médio ao superior completo; onde o cão fica: quintal/canil/casinha/outros lugares e se o cão usa shampoo contra pulgas e carrapatos, quando analisada por protocolo. Os resultados apresentados demonstram que a leishmaniose visceral reemergiu em Governador Valadares/MG, cidade que já foi considerada uma área endêmica controlada da doença. Além disso, podemos concluir que quando o animal usa regularmente a coleira impregnada com deltametrina a efetividade da coleira aumenta consideravelmente. É importante ressaltar que a efetividade após maior tempo de acompanhamento possivelmente será superior, visto que animais que se encontravam na janela imunológica podem não ter sido removidos do estudo com os testes sorológicos de triagem.

Palavra chave: Leishmaniose visceral canina, Teste de coleira impregnada com deltametrina, Fatores de risco, Efetividade.

Visceral leishmaniasis (VL) is a zoonosis that is in a great expansion in Brazil, and the disease is caused by the *L. infantum* parasite, transmitted by the vector *Lutzomyia longipalpis* and the dog is considered the main reservoir hosts in urban areas. To control the disease, the Brazilian VL Surveillance and Control Program resorts to the euthanasia of seroreactive dogs. In this scenario, it is essential to seek other strategies to avoid the dog slaughter and to contain the spread of the disease. Therefore, the present work aimed to evaluate the effectiveness of the deltamethrin-impregnated collar in reducing the incidence of canine infection by *L. infantum*. To achieve this goal, a study of non-randomized intervention was designed and was carried out in dogs of a high endemicity urban area in the municipality of Governador Valadares located in the eastern state of Minas Gerais. During the study baseline, 5,851 dogs were evaluated and the prevalence rate of canine visceral leishmaniasis (CVL) was 21.9% (95% CI 21.0-23.1). A total of 3,797 seronegative animals were eligible for the study intervention, in which 1,866 dogs received the collar and 1,931 didn't receive the collar). The owners of the dogs answered a questionnaire containing information about socioeconomic conditions, housing, peridomicile and animal behavior. The incidence of canine infection in the groups evaluated after 12 months was 5.5/1000 dogs/month in the collared area and 13.2/1000 dogs/month in the collarless area. The effectiveness of the collar in reducing the incidence of infection after 12 months was 50.8% when analyzed by intention to treat. By protocol, the incidence was 5.1 and 13.2 dogs/month in the areas without collar and collar, respectively, with an effectiveness of 61.4%. Through the Cox model the effectiveness was 50% according to the intention to treat and adjusted for the presence of leaves in the backyard, the place where the dog stays (yard/kennel/house/other places), if the dog flees to the street, and if it uses shampoo against fleas and ticks. In addition, when the model was analyzed according to the protocol the effectiveness was 60% adjusted for the presence of leaves in the backyard; presence of other animals; residents with higher schooling; the place where the dog stays (yard/kennel/house/other places) and if the dog uses shampoo against fleas and ticks. In general, the results revealed the reemergence profile of visceral leishmaniasis in Governador Valadares/MG, a city that was considered a controlled endemic area. In addition, the intervention study data show that when the animal regularly uses the deltamethrin-impregnated collar, the effectiveness of the collar increases considerably.

Key words: Canine visceral leishmaniasis, Deltamethrin impregnated collar test, Risk factors, Effectiveness.

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Aspectos gerais da leishmaniose visceral	2
1.2 Importância do cão na leishmaniose visceral	4
1.3 Técnicas de diagnósticos sorológicos adotadas pelo Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (PVC-LV)	5
1.4 Epidemiologia da leishmaniose visceral	7
1.5 Fatores de risco para a infecção canina por <i>Leishmania infantum</i>	11
1.6 Medidas de controle e profilaxia	12
2. HIPÓTESE	18
3. OBJETIVOS	20
3.1 Objetivo Geral	21
3.2 Objetivos Específicos	21
4. MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1 Área de estudo	23
4.2 Delineamento do estudo	26
4.2.1 Estudo Transversal	26
4.2.2 Estudo de Intervenção não randomizado	28
4.3 Cálculo da amostra e amostragem	29
4.4 Coleta da amostra e avaliação clínica	29
4.5 Análise estatística dos dados	30
4.5.1 Análise do estudo transversal	30
4.5.1.1 Análise univariada	30
4.5.1.2 Análise multivariada e construção do modelo final	30
4.5.2 Análise do estudo de intervenção	31
4.5.2.1 Análise de incidência pessoa-tempo	31
4.5.2.2 Análise de efetividade da coleira	31
4.6 Aspectos éticos	31
5. RESULTADOS	32
5.1 Estudo transversal	33
5.1.1 Características socioeconômicas, condições de moradia dos proprietários e conhecimento sobre o vetor	33
5.1.2 Características dos cães	36
5.1.3 Prevalência de infecção por <i>Leishmania infantum</i>	40
5.1.4 Análise dos fatores de risco para infecção canina	40
5.1.5 Análise multivariada e modelo final	45
5.1.6 Resultados dos exames sorológicos do estudo transversal e formação dos grupos sem e com coleira	46

5.2 Estudo de intervenção	47
5.2.1 Animais elegíveis	47
5.2.1.1 Características socioeconômicas e condições de moradia dos proprietários	47
5.2.2.2 Características dos cães	49
5.3 Incidência de soroconversão após 6 e 12 meses de encoleiramento	49
5.3.1 Incidência pessoa/tempo e efetividade	51
5.3.2 Análise da efetividade da coleira ajustada pelas variáveis avaliadas	53
6. DISCUSSÃO	58
6.1 Estudo transversal	59
6.2 Estudo de intervenção	61
7. RESUMO DOS RESULTADOS	66
8. CONCLUSÃO	68
9. PERSPECTIVAS	70
10. APÊNDICES	72
10.1 Termo de consentimento livre e esclarecido	73
10.2 Ficha de identificação do proprietário	74
10.3 Ficha de avaliação do cão	76
10.4 Ficha do primeiro retorno	78
10.5 Ficha do segundo retorno	79
11. ANEXOS	80
11.1 Aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais-CEUA/UFOP	81
11.2 Apoio da Diretoria de Vigilância Ambiental	82
11.3 Convênio entre o município de Governador Valadares e a UFOP	83
11.4 Termo de doação da coleira pelo Ministério da Saúde	84
12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	85

Figura 1: Número de casos e óbitos de leishmaniose visceral humana, notificados no período de 2008 a 2016, em Governador Valadares.....	10
Figura 2: Localização Geográfica do Município de Governador Valadares, Minas Gerais, Brasil.....	23
Figura 3: Distribuição dos bairros por setores (A a I) no município de Governador Valadares – MG.....	25
Figura 4: Representação das características dos bairros por setores A e H (área coleira) e setores B e G (área sem coleira), no município de Governador Valadares – MG.....	25
Figura 5: Delineamento do estudo transversal.	27
Figura 6: Delineamento do estudo de intervenção.	28
Figura 7: Linha de base do estudo transversal e formação dos grupos sem coleira e com coleira.	46
Figura 8: Resultados sorológicos após 6 e 12 meses ao encoleiramento por intenção de tratar.	50
Figura 9: Resultados sorológicos após 6 e 12 meses ao encoleiramento por protocolo.	51
Figura 10: Estimativa de sobrevida de Kaplan-Meier por intenção de tratar (A) e por protocolo (B).....	52

Quadro 1: Discriminação dos bairros por setores (A-I), Governador Valadares- MG (Fonte: Pinheiro, 2014).....24

Tabela 1: Distribuição de frequências das variáveis relacionadas às características socioeconômicas da população total do estudo, Governador Valadares, MG, 2014-2015.	33
Tabela 2: Distribuição de frequências das variáveis relacionadas ao domicílio e peridomicílio da população total do estudo, Governador Valadares, MG, 2014-2015.....	35
Tabela 3: Distribuição de frequências das variáveis relacionadas à visualização do vetor pela população total do estudo, Governador Valadares, MG, 2014-2015.	36
Tabela 4: Características da população total dos cães do estudo e os cuidados dos proprietários, Governador Valadares, MG, 2014-2015.	38
Tabela 5: Sinais clínicos sugestivos de LVC encontrados em todos os cães avaliados, Governador Valadares, 2014-2015.....	39
Tabela 6: Análise univariada das variáveis relacionadas a escolaridades e condições socioeconômicas de toda população do estudo, Governador Valadares, MG, 2014-2015.	41
Tabela 7: Análise univariada das variáveis relacionadas às características do domicílio e peridomicílio da população total do estudo, Governador Valadares, MG, 2014-2015.	42
Tabela 8: Análise univariada das variáveis relacionadas a visualização do vetor por todos proprietários do estudo, Governador Valadares, MG, 2014-2015.	43
Tabela 9: Análise univariada das variáveis relacionadas às características de todos os cães do estudo, Governador Valadares, MG, 2014-2015.	44
Tabela 10: Fatores de risco para infecção canina por <i>Leishmania infantum</i> de acordo com o modelo final, Governador Valadares, MG, 2014-2015.	45
Tabela 11: Distribuição de frequências das variáveis relacionadas às características do proprietário, domicílio, peridomicílio nas áreas sem e com coleira, Governador Valadares, MG, 2014-2015.....	48
Tabela 12: Distribuição de frequências das variáveis relacionadas à visualização do vetor pelo proprietário nas áreas sem e com coleira, Governador Valadares, MG, 2014-2015.....	48
Tabela 13: Características do cão e os cuidados do proprietário com seus cães nas áreas sem e com coleira, Governador Valadares, MG, 2014-2015.....	49
Tabela 14: Efetividade por intenção de tratar levando em conta a incidência cão/tempo em meses.	52
Tabela 15: Efetividade por protocolo levando em conta a incidência cão/tempo em meses. .	52
Tabela 16: Análise univariada das variáveis relacionadas às características domicílio e peridomicílio da população elegível ao seguimento do estudo utilizando modelo de cox, Governador Valadares, MG, 2014-2015.	54

Tabela 17: Análise univariada das variáveis relacionadas a visualização do vetor pela população elegível ao seguimento do estudo utilizando modelo de cox, Governador Valadares, MG, 2014-2015..55

Tabela 18: Análise univariada das variáveis relacionadas a escolaridades e condições socioeconômicas da população elegível ao seguimento do estudo utilizando modelo de cox, Governador Valadares, MG, 2014-2015. 55

Tabela 19: Análise univariada das variáveis relacionadas as características dos cães elegíveis ao seguimento do estudo utilizando modelo de cox, Governador Valadares, MG, 2014-2015.56

Tabela 20: Avaliação de efetividade da coleira impregnada com deltametrina na infecção canina por *Leishmania infantum* de acordo com o modelo de cox, Governador Valadares, MG, 2014-2015..... 57

1. INTRODUÇÃO

1.1 Aspectos gerais da leishmaniose visceral

As leishmanioses são doenças negligenciadas com uma grande diversidade clínico-epidemiológica, constituindo um sério problema de saúde pública (Desjeux, 2004). Mais de 20 espécies de *Leishmania* podem ser incriminadas como agentes etiológicos das leishmanioses, sendo transmitidas para o homem por aproximadamente 30 diferentes espécies de vetores. A Organização Mundial de Saúde (OMS) divide as leishmanioses em dois grupos clínicos (leishmaniose tegumentar e leishmaniose visceral). A leishmaniose tegumentar pode se manifestar em três principais formas clínicas: leishmaniose cutânea (LC), cutânea mucosa (LCM) e cutânea difusa (LCD); enquanto a leishmaniose visceral (LV) pode ser clinicamente classificada em LV assintomática ou subclínica, LV oligossintomática, LV aguda e LV crônica (Badaró *et al.*, 1986; Gontijo & Carvalho, 2003, WHO, 2010).

A LV é uma doença negligenciada que apresenta importante impacto para a saúde pública mundial, apresentando cerca de 200.000–400.000 novos casos por ano (Alvar *et al.*, 2012). A infecção é causada por duas distintas espécies de protozoários do gênero *Leishmania*: *Leishmania (Leishmania) donovani* e *Leishmania (Leishmania) infantum* (Lainson & Shaw, 1987; WHO, 2010; Leblois *et al.*, 2011). Na Índia e África Central, o agente etiológico é a *L. donovani*. Já na América do Sul, Oriente Médio, Ásia Central, China e Mediterrâneo o agente etiológico é a *Leishmania chagasi* (Palatnik-de-Souza & Day, 2011), reconhecida como sinônimo de *L. infantum* baseado em análises bioquímicas e moleculares (Mauricio *et al.*, 1999; Dantas-Torres, 2006; Leblois *et al.*, 2011).

Embora a expressão clínica da LV seja semelhante nas várias regiões do mundo, os agentes etiológicos apresentam dois tipos de ciclos epidemiológicos de acordo com a ausência ou presença dos reservatórios das espécies de *Leishmania* do complexo donovani: antroponótico e zoonótico. No ciclo antroponótico, o homem é o único ou o principal hospedeiro vertebrado, e ocorre principalmente em países do subcontinente Indiano e Leste Africano (Ross, 1903; Mauricio *et al.*, 1999; Ashford, 2000; Alvar *et al.*, 2006). Assim, a infecção parece ocorrer em um ciclo entre os seres humanos e o inseto vetor, sem a presença relevante de um animal como reservatório (Palatnik-de-Souza *et al.*, 2001). No ciclo zoonótico, no caso da *L. infantum*, a transmissão depende principalmente de um reservatório infectado (cão e raposa) (Lainson & Shaw, 1987), e o homem não representa fonte de infecção para os flebotomíneos (Costa *et al.*, 2000). Embora a LV de transmissão antroponótica corresponda a aproximadamente 80-90% dos casos em todo o mundo, a LV de transmissão zoonótica tem

chamado a atenção de órgãos oficiais de saúde pública e da comunidade científica dada a crescente expansão da doença em regiões urbanas de países da América do Sul (WHO, 2010).

Os hospedeiros invertebrados são insetos vetores da família Psychodidae, subfamília Phlebotominae, pertencentes ao gênero *Phlebotomus* no Velho Mundo, e *Lutzomyia* no Novo Mundo (Lainson & Shaw, 1987). A espécie *Lutzomyia longipalpis* é o principal inseto vetor da LV no Continente Americano, sendo sem dúvida a espécie mais importante na epidemiologia desta doença no Brasil (Lainson & Rangel, 2005; Quinnell *et al.*, 2009). Este vetor possui aproximadamente 2 a 3 mm de comprimento e está bem adaptado ao ambiente peridomiciliar e intradomiciliar, a alta temperatura e baixa umidade (Young & Arias, 1992). Além disso, possui hábito alimentar noturno e durante o crepúsculo realiza o repasto sanguíneo em uma grande variedade de hospedeiros vertebrados como aves, cavalos, outros animais silvestres e domésticos, dentre estes principalmente os cães (Deane & Deane, 1962; Grimaldi *et al.*, 1989; Barata *et al.*, 2004).

As fêmeas de flebotomíneos estão amplamente distribuídas na natureza (Shaw, 2003), e apenas estas são hematófagas, sendo o estado fisiológico do inseto um fator importante na quantidade e composição da proteína salivar. No geral, estes insetos precisam ingerir açúcar para atender às demandas de energia do metabolismo basal e atividades como o voo. O sangue é necessário para o desenvolvimento e maturação dos ovos. As fêmeas estão hábeis a hematofagia no primeiro dia de vida, porém normalmente a realizam após o segundo dia, tempo em que as suas peças bucais já se encontram rígidas e as glândulas salivares amadurecidas (Prates *et al.*, 2008).

Durante o repasto sanguíneo as fêmeas de flebotomíneos podem sugar formas amastigotas, presentes nas células do sistema fagocítico mononuclear (SFM) da derme do hospedeiro vertebrado. No interior do tubo digestório do vetor, após sucessivas divisões binárias (Bastien *et al.*, 1992) o parasito se transforma em formas promastigotas metacíclicas que são infectantes mediante o processo denominado de metaciclogênese, sendo o microbioma do intestino médio das fêmeas de flebotomíneos um fator crítico para o crescimento e diferenciação da *Leishmania* para o seu estado infectivo (Kelly *et al.*, 2017). O mesmo inseto, em um segundo repasto, poderá inocular formas infectantes em um novo hospedeiro vertebrado, e neste processo, o conteúdo da glândula salivar é depositado com a *Leishmania* no local da picada. Estas secreções salivares contém uma mistura rica em proteínas que promovem o bloqueio de mecanismos hemostáticos do hospedeiro, beneficiando o vetor na obtenção do alimento (Teixeira *et al.*, 2005; Ribeiro *et al.*, 2010). Estas formas infectantes são fagocitadas

por células do SFM, se transformam em amastigotas e se multiplicam no interior dos vacúolos parasitóforos de órgãos linfóides como o baço, gânglios linfáticos, medula óssea e fígado.

De um modo geral, no momento da obtenção de sangue em um hospedeiro vertebrado os flebotomíneos enfrentam dificuldades devido aos mecanismos de respostas fisiológicas do indivíduo, que podem se contrapor à alimentação do vetor. A saliva dos flebotomíneos são ricas em moléculas ativas capazes de debelar as respostas hemostáticas, composta por cascata de coagulação sanguínea, vasoconstrição, fibrinólise, agregação plaquetária, contornar a inflamação no local da picada e evitar uma resposta imunológica do hospedeiro (Ribeiro & Francischetti, 2003; Teixeira *et al.*, 2005; Andrade *et al.*, 2007).

1.2 Importância do cão na leishmaniose visceral

Os cães (*Canis familiaris*) são os principais reservatórios do parasito no ambiente doméstico, seja rural ou urbano, pois independentemente da forma clínica, costumam apresentar elevado parasitismo cutâneo, além de alta prevalência neste ambiente, comportando-se como fonte de infecção para os vetores (Grimaldi *et al.*, 2012a). Seu papel no ciclo epidemiológico da LV começou a ser observado por Nicolle & Comte (1908) na Tunísia, após a detecção do agente etiológico da doença nestes animais. No Brasil, em 1936, Evandro Chagas descreveu o primeiro caso clínico diagnosticado de LV e demonstrou a existência da doença no homem e no cão, além da infecção do flebotomíneo *Lu. longipalpis*, classificando o parasito como *Leishmania chagasi* (Chagas, 1936; Chagas *et al.*, 1938).

Deane & Deane (1954) descreveram a presença do parasito na pele de cães infectados, demonstrando que estes animais podem se comportar como fonte de infecção para o flebotomíneo, favorecendo a transmissão da doença para o homem. Assim, após um amplo e pioneiro estudo, Deane (1956) e Deane & Deane (1962) incriminaram o cão como reservatório doméstico e a raposa (*Dusicyon vetulus*) como reservatório silvestre do parasito, contribuindo para o entendimento de fatores relacionados à epidemiologia da *L. infantum* no Novo Mundo.

Alguns trabalhos demonstram que os casos de leishmaniose visceral canina (LVC) geralmente precedem os casos de leishmaniose visceral humana (LVH), uma vez que os cães apresentam elevado parasitismo cutâneo, favorecendo a manutenção do ciclo de transmissão (Marzochi *et al.*, 1985; Madeira *et al.*, 2004; Dantas-Torres & Brandão-Filho, 2006; Fraga *et al.*, 2012; Grimaldi *et al.*, 2012a, Zoghiani *et al.*, 2014). Além disso, a LVC apresenta um padrão emergente, com um aumento do número de cães soropositivos e expansão geográfica da doença para regiões não endêmicas (Harhay *et al.*, 2011).

Um dos primeiros sinais clínicos típicos observados na LVC são a hipertrofia dos linfonodos poplíteos e a ocorrência de uma dermatite descamante periorbital e nasal, que se dissemina para outras áreas da pele (Fernández-Cotrina *et al.*, 2013). O pelo do animal torna-se opaco e inicia-se a alopecia, sendo acompanhada por onicogribose, ceratoconjuntivite e edema das patas. Pode ainda ocorrer febre, coriza, apatia, diarreia, hemorragia intestinal e em casos mais graves, atrofia muscular com paresia das patas posteriores, anorexia, perda de peso, caquexia e morte (Mancianti *et al.*, 1988; Reis *et al.*, 2009). Vale destacar, que estes sinais clínicos podem ser influenciados por diversos fatores, como o tipo de resposta imunológica apresentada por estes animais, o grau de infecção do cão, raça, estado nutricional e doenças concomitantes que podem afetar o curso da infecção nesses animais (Genaro, 1993; Vexenat *et al.*, 1994; Acedo-Sanchez *et al.*, 1996; Solano-Gallego *et al.*, 2000; Moreno & Alvar, 2002; Dantas-Torres *et al.*, 2012).

Nas áreas endêmicas geralmente há elevada prevalência de animais indeterminados nos testes sorológicos que não despertam a atenção dos proprietários, veterinários e do próprio programa de controle, principalmente nos casos de assintomáticos soronegativos e PCR+ que se comportam como reservatórios silenciosos (Berrahal *et al.*, 1996; Cabral *et al.*, 1998; Solano-Gallego *et al.*, 2000; Solano-Gallego *et al.*, 2001; Dantas-Torres & Brandão-Filho, 2006; Coura-Vital *et al.*, 2011). Esses animais assintomáticos podem evoluir para autocura ou para a forma clínica sintomática, ou ainda permanecerem infectados por anos e até por toda sua vida sem manifestação clínica (Moreno & Alvar, 2002; Grimaldi *et al.*, 2012a). É importante ressaltar que apesar da menor carga parasitária cutânea observada em animais assintomáticos, estes podem comportar-se como fontes de infecção para os flebotomíneos (Marzochi *et al.*, 1985; Molina *et al.*, 1994; Costa-Val *et al.*, 2007; Reis *et al.*, 2010) e portanto, com a disseminação da doença.

1.3 Técnicas de diagnósticos sorológicos adotadas pelo Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (PVC-LV)

O diagnóstico laboratorial da LVC recomendado pelo Ministério da Saúde é baseado no exame parasitológico ou sorológico (Brasil, 2006). Contudo, os testes sorológicos são os mais empregados para os programas de controle visto que a LV é caracterizada por uma marcada estimulação policlonal de linfócitos B, resultando em hipergamaglobulinemia com grande produção de anticorpos (Reis *et al.*, 2006). Além de que, a soroconversão ocorre

aproximadamente três meses após a infecção, o que facilita o diagnóstico através de testes sorológicos, evitando assim os parasitológicos, que são menos sensíveis (Rosario *et al.*, 2005) e trabalhosos.

Até 2012, os métodos de diagnósticos recomendados pelo Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (PVC-LV) baseavam-se na pesquisa de anticorpos IgG através de métodos sorológicos convencionais quando eram empregadas as técnicas de ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) como método de triagem e a RIFI (Reação de Imunofluorescência Indireta) como teste confirmatório, sendo o título 1:80 considerada positiva para humanos e a de 1:40 para cães. Estes exames sorológicos eram realizados utilizando amostras de soro ou de sangue colhidas em papel de filtro (Brasil, 2006; Silva *et al.*, 2011).

Por muitos anos, a RIFI foi considerada o teste sorológico de referência para LVC no Brasil. No entanto, esta técnica apresenta limitações como a baixa reprodutibilidade, especialmente quando o papel de filtro foi utilizado, grandes percentuais de resultados falso-positivos devido infecção concomitante com *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma caninum*, *Leishmania braziliensis*, *Ehrlichia canis* e resultados falso-negativos (Ferreira *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2011; Alves *et al.*, 2012; Sousa *et al.*, 2013). Ainda, a RIFI pode ser impraticável para uso em áreas rurais devido à falta de equipamentos de laboratório e técnicos qualificados para interpretar os resultados.

Embora, o teste sorológico ELISA também apresente reatividade cruzada com co-infecções, a sua sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade são melhores do que a RIFI (Ferreira *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2013). Além disso, ELISA é uma técnica de leitura automatizada que permite o exame de um grande número de amostras simultaneamente e de leitura menos subjetiva do que a RIFI, que pode levar a resultados distintos entre os leitores da reação. Alguns estudos estimam que a sensibilidade da RIFI varia de 68% a 100%, e a especificidade entre 52% a 100%, ao passo que a sensibilidade do ELISA varia de 91% a 97% e a especificidade entre 83% a 98% (Lira *et al.*, 2006; Ferreira *et al.*, 2007; Arruda *et al.*, 2013).

Em 2011 (Brasil, 2011) o PVC-LV com o objetivo de melhorar a precisão no diagnóstico da LVC recomendou a modificação no protocolo de diagnóstico canino eliminando a RIFI e inserindo o Dual Path Platform (DPP) como teste de triagem, e o ELISA como teste confirmatório. O teste rápido DPP é um teste sorológico imunocromatográfico que emprega a combinação da proteína A conjugada a partículas de ouro coloidal com antígenos recombinantes rk28 (fusão da rk9, rk26 e rk39) específicos de *Leishmania*, ligados a uma membrana de nitrocelulose. A proteína é o produto de um gene clonado a partir de *Leishmania*

infantum que contém uma repetição de 39 aminoácidos conservados entre as espécies viscerotrópicas de *Leishmania* (*L. donovani*, *L. infantum*). A presença de anticorpos anti-rK39 é indicativo de infecção, e ainda não foi relatado reação cruzada destes antígenos com outros tripanossomatídeos (DPP®; Bio-Manguinhos / FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brasil) (Brasil, 2011; Grimaldi *et al.*, 2012b; FUNED, 2013; Fraga *et al.*, 2016).

O DPP® tem apresentado alta sensibilidade em cães com sinais clínicos e alta especificidade em cães assintomáticos. Além de apresentar a vantagem de dispensar estrutura laboratorial e equipamentos, armazenamento por refrigeração e especialização tecnológica, podendo ser usado em condições de campo. O DPP® agrega precisão ao diagnóstico da LVC em sangue, soro, eluato ou plasma. Por ser um teste de triagem, este teste permite que apenas casos positivos sejam levados para confirmação, desonerando desta forma os laboratórios de sorologia e os custos do diagnóstico (Grimaldi *et al.*, 2012b; Sundar, 2015).

Nosso grupo de pesquisa comparou pela primeira vez a alteração dos protocolos para o diagnóstico da LVC no Brasil. Para isso foi realizado um estudo transversal com 1.226 cães, seguido de um estudo de coorte com 447 cães provenientes de Belo Horizonte, Minas Gerais. Os resultados mostraram que o protocolo usando o DPP e o ELISA detectou uma maior prevalência (8,1%) e incidência (5,4/1.000 cão-mês) de cães infectados quando comparados ao protocolo empregando ELISA e RIFI (prevalência, 6,2%; incidência, 2,8/1000 cão-mês), concluindo que o antigo protocolo subestimava as taxas de infecção nas áreas endêmicas (Coura-Vital *et al.*, 2014). Em um outro estudo foram comparados os protocolos usando um total de 780 amostras de cães, sendo observado que o protocolo DPP e ELISA apresentaram um melhor desempenho no diagnóstico sorológico para LVC e apresentou uma excelente acurácia (0,91 em cães sintomáticos e 0,97 para cães assintomáticos) em comparação com o protocolo anterior ELISA e RIFI (Fraga *et al.*, 2016).

1.4 Epidemiologia da leishmaniose visceral

A LV apresenta uma ampla distribuição geográfica e uma elevada morbi-mortalidade, especialmente nos países menos desenvolvidos. Apesar da subnotificação, estima-se que anualmente ocorram 500.000 novos casos de LV com 59 mil óbitos em vários países da Europa, Ásia, Oriente Médio, África e Américas (WHO, 2010). Apesar de ser considerada uma doença endêmica em 88 países, aproximadamente 90% dos casos notificados no mundo ocorrem em Bangladesh, Índia, Nepal, Etiópia, Sudão e Brasil, sendo este último responsável por 90% dos

registros que ocorrem no continente americano (Desjeux, 2004; Bhattacharya *et al.*, 2006; WHO, 2010; Conti *et al.*, 2016).

Alguns autores têm sugerido que a *L. infantum* foi introduzida nas Américas e originada da Europa mediante cães e ratos que aqui chegaram nas caravelas dos colonizadores. Provavelmente o parasito se espalhou pelo Brasil devido à migração, urbanização, comércio e presença de um vetor permissivo, o *Lu. longipalpis* (Killick-Kendrick *et al.*, 1990; Rotureau *et al.*, 2006; Kuhls *et al.*, 2011; Brazil, 2013).

A presença da LV na América foi suspeita em 1911 pelo brasileiro Carlos Chagas que relatou uma esplenomegalia em crianças da Bacia Amazônica (Cunha & Chagas, 1937). No entanto, o registro do primeiro caso da doença no Brasil ocorreu em 1913, proveniente do material de necropsia de um paciente oriundo de Boa Esperança, Mato Grosso, descrito por Migone, um pesquisador do Paraguai (Migone, 1913). A partir de um estudo realizado para o diagnóstico e distribuição da febre amarela no Brasil, Henrique Penna encontrou 41 casos positivos para a *Leishmania*, sendo o parasito encontrado em lâminas de viscerotomias praticadas *post-mortem* em indivíduos de várias localidades rurais do país, principalmente do Ceará (Penna, 1934). Nas cidades do Pará, Abaetetuba e Moju, onde casos de LV haviam sido registrados por Penna em 1934, a equipe de Carlos Chagas descobriu mais casos da doença, tanto em humanos como em cães (Chagas *et al.*, 1938).

Até meados da década de 80, a LV no Brasil ocorria principalmente em zonas rurais e em municípios com baixo nível sócioeconômico. Nas três últimas décadas, houve uma mudança do perfil epidemiológico da doença comprovada pela ocorrência de inúmeros casos de LV em cidades de médio e grande porte (Brasil, 2006). Esta urbanização se deve em parte aos processos migratórios da população da zona rural para as grandes cidades, iniciados com a seca, aliada ao crescimento desordenado das cidades; às intensas transformações ambientais e às altas densidades demográficas que facilitaram a dinâmica e a expansão da doença com o surgimento e reativação de novos casos (Arias, 1996; Desjeux, 2001; Werneck, 2008).

A LV está amplamente distribuída no Brasil tendo sido notificada em 26 das 27 Unidades da Federação, atingindo todas as regiões geográficas. A média anual de casos no país no período de 2010-2015, foi de 3.409 casos humanos, e em 2015, a letalidade foi de 7,8%, com 272 óbitos e incidência aproximada de 1,6 casos por 100.000 habitantes (Brasil, 2017).

O aumento do número de casos de LV humana em grandes centros urbanos como as cidades de Araguaína (TO), Aracajú (SE), Araçatuba (SP), Bauru (SP), Belo Horizonte (MG), Campo Grande (MS), Cuiabá (MT), Fortaleza (CE), Palmas (TO), Petrolina (PE), Recife (PE)

e Teresina (PI) chamou bastante atenção. Com a dispersão da doença, a região Nordeste, que concentrava 92,9% dos casos de LV em 1999, passou a apresentar 47,8% dos casos em 2011. Já a região sudeste destacou-se, pois possuía 2,6% dos casos em 1999 e elevou seu nível de prevalência representando em 2011 15% dos casos do Brasil (Brasil, 2006; Brasil, 2012, Werneck, 2014).

Em Minas Gerais, entre os anos de 1989 a 1999, ocorreu a urbanização da leishmaniose no estado devido ao impacto ambiental do crescimento da economia agrícola aliado ao desflorestamento e aos problemas socioeconômicos ocasionados pela migração desordenada (Silva *et al.*, 2001). Várias cidades de Minas Gerais há uma elevada prevalência de LVC e alta densidade do vetor *Lu. longipalpis* (França-Silva *et al.*, 2003; França-Silva *et al.*, 2005; Monteiro *et al.*, 2005; Coura-Vital *et al.*, 2011; Michalsky *et al.*, 2011; Barata *et al.*, 2011; Barata *et al.*, 2013; Tanure *et al.*, 2015; Lara-Silva *et al.*, 2015). Dentre as cidades com elevada prevalência de LV, destaca-se a cidade de Governador Valadares localizada na região do Vale do Rio Doce em Minas Gerais, onde foram relatados 130 casos humanos diagnosticados como portadores da LV em 1964 (Coelho & Falcão, 1966).

Durante um inquérito sorológico realizado no Vale do Rio Doce, no período de janeiro de 1965 a outubro de 1979, foram coletadas 9.433 amostras de cães para exame parasitológico da LVC. Destas, 19 (0,2%) estavam infectadas. No entanto, neste período não foi registrado a ocorrência de casos humanos (Magalhães *et al.*, 1980). Após a adoção de um programa de controle da LVC realizado pela extinta Superintendência de Campanhas de Saúde Pública/SUCAM por meio de aplicações periódicas de DDT nas habitações e abrigos de animais, o Vale do Rio Doce foi considerado uma área endêmica controlada e serviu como um modelo para apoiar o programa de controle da LV (Mayrink *et al.*, 1979; Magalhães *et al.*, 1980). Contudo, na década de 1990, a vigilância epidemiológica e o programa de combate à LVC foram completamente interrompidos e não houve uma fiscalização regular da disseminação da doença na região.

Malaquias *et al.* (2007) ao examinarem cães da região de Governador Valadares no ano de 2003, observaram que os animais apresentavam vários sinais clínicos associados à LVC. Foram realizados teste de diagnósticos através de ensaio imunoenzimático que revelaram 13,7% e 12,4% de positividade em cães provenientes das áreas urbana e rural, respectivamente. Também foi confirmada a presença de parasitismo em cães através da cultura de tecidos *in vitro* e foram encontrados flebotomíneos do gênero *Lutzomyia* na área. Desta forma, estes autores forneceram uma forte evidência do ressurgimento da LVC na região.

A partir de então, iniciou-se um inquérito sorológico amostral em cães da cidade de Governador Valadares. O primeiro bairro avaliado foi o Vera Cruz, no qual não foram encontrados cães positivos para LV, posteriormente, nos bairros Carapina e Vila Isa, foram detectados 15 e 40 cães positivos, respectivamente. Com a detecção destes animais sororreativos, foi realizado o diagnóstico parasitológico de alguns destes animais confirmando a infecção por *Leishmania* (CCZ-GV, dados não publicados). Deste modo, confirmada a presença da epizootia no município, o programa de controle da LV iniciou os inquéritos caninos censitários em 2008.

Em junho de 2008 foi diagnosticado o primeiro caso humano de LV. No período 2008 a 2016, o município apresentou 171 casos autóctones de leishmaniose visceral, com 22 óbitos (Figura 1) (Dados fornecidos CCZ-GV), atualmente considerado uma área endêmica e de transmissão intensa de LV. As ações de controle da LV preconizadas pelo Ministério da Saúde foram implantadas no município, priorizando os bairros com diagnóstico de LV humano e bairros com elevada presença do inseto vetor (Brasil, 2006). Segundo um estudo realizado na região no período de 2008 a 2011, a doença prevaleceu no sexo masculino (73,2%), em crianças de 0-9 anos (44,1%), com uma taxa de letalidade de 16,2% (Barata *et al.*, 2013). Um inquérito sorológico canino realizado em 16.529 cães domésticos de 35 distritos da região, mostrou que 4.992 (30,2%) cães foram positivos para LV e que a prevalência variou entre 13,6% e 53,4% nas diferentes localidades. O exame clínico de 343 cães soropositivos mostrou que 49,9% deles foram considerados sintomáticos e o vetor *Lu. longipalpis*, que em 2006 era encontrado em pouca quantidade (CCZ-GV, dados não publicados), foi a espécie predominante (90%), sugerindo a sua participação na transmissão da LV na área (Barata *et al.*, 2013).

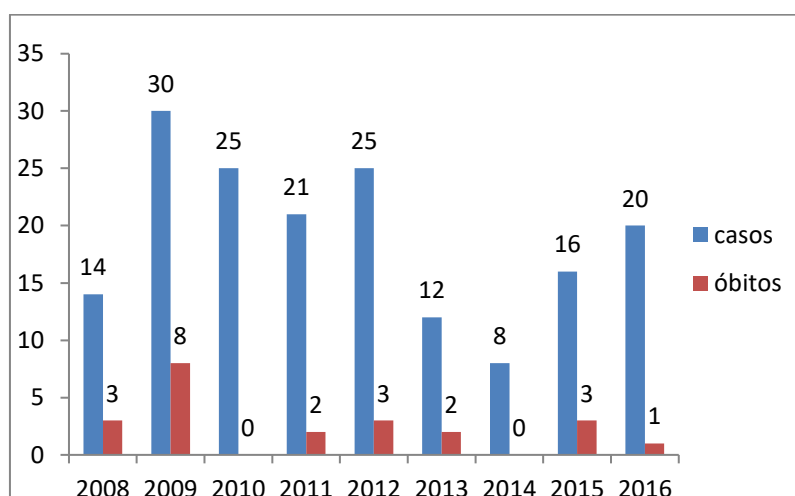


Figura 1: Número de casos e óbitos de leishmaniose visceral humana, notificados no período de 2008 a 2016, em Governador Valadares

Fonte: PMGV-SMS- CCZ.

1.5 Fatores de risco para a infecção canina por *Leishmania infantum*

A compreensão dos fatores que influenciam a manutenção da transmissão da LV em áreas urbanas é de grande importância. Investigar as particularidades do parasito, as características ecológicas dos locais de transmissão, a exposição atual e passada da população ao parasito, bem como as questões referentes ao comportamento humano, pode colaborar para um melhor entendimento deste processo de urbanização e da dinâmica de distribuição da doença (Belo *et al.*, 2013). O somatório destes conhecimentos pode contribuir para o aprimoramento das estratégias voltadas ao controle da doença pelos órgãos de saúde pública.

Neste contexto, no intuito de avaliar os fatores de risco para a soroconversão canina por *L. infantum*, Coura-Vital *et al.* (2013a) realizaram um estudo de coorte em uma área endêmica urbana do Brasil e foi constatado que o cão de pelo curto, presença de folhas secas e/ou matéria orgânica no quintal, bem como o fato do cão dormir predominantemente no quintal, a presença de sinais clínicos da doença são fatores associados ao risco da infecção canina. Em outro trabalho foi observado que além das questões relacionadas ao cão, a abundância vetorial é um importante fator de risco para LVC (Barata *et al.*, 2013), bem como, a presença de casos anteriores de LVC nos domicílios (Silva *et al.*, 2012; Barata *et al.*, 2013; Coura-Vital *et al.*, 2013b) e as paredes das casas sem rebocos, sugerindo que a pulverização de inseticida em fendas e rachaduras dessas paredes, dentro e ao redor das casas, pode reduzir a presença de flebotomíneos e as taxas de infecção canina (Coura-Vital *et al.*, 2013b).

Também já foi demonstrado que cães mais jovens (1-6 anos) que vivem a menos de 100 metros da vegetação (Lopes *et al.*, 2014), em terrenos abandonados (Leça Junior *et al.*, 2015), as condições ambientais da propriedade (presença de quintais de terra ou cimento) (Fernandes *et al.*, 2016) e o animal ter acesso à rua (Almeida *et al.*, 2012) são fatores que expõem os cães a condições ambientais mais favoráveis à manutenção do ciclo epidemiológico da doença e consequentemente a infecção canina por LV. Desta forma, algumas medidas preventivas podem ser utilizadas para reduzir o risco de infecção canina tais como: manter o cão em canis telados, ou dentro da residência, durante o período de maior atividade do vetor; diminuir os microambientes que favorecem a adaptação do flebotomíneo próximo aos locais de permanência do cão; usar inseticidas e coleiras impregnadas com repelente e evitar que o cão fuja para a rua (Alexander & Maroli, 2003; Solano-Gallego *et al.*, 2009).

Sabe-se que a presença de cães positivos é considerada um indicador útil para monitorar a força de transmissão da LV para os seres humanos (Belo *et al.*, 2013). Sendo assim, áreas

com alta prevalência ou incidência canina devem ser priorizadas pelo Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral ao realizar suas intervenções. Também sobre o reservatório deve-se ressaltar a importância de políticas públicas que promovam a guarda responsável do cão. Além disso, a identificação de áreas de maior risco para a priorização de intervenção deve levar em conta a abundância de vegetação, bem como a ocorrência prévia de casos de LV.

Uma infraestrutura urbana e manejo ambiental adequado, também devem ser consideradas importantes medidas de intervenção contra LV (Brasil, 2006; Belo *et al.*, 2013). Sendo assim, o conhecimento desses fatores determinantes para a infecção canina é essencial à saúde pública uma vez que possibilita o planejamento de estratégias que visam a redução do número de casos de LVC e conseqüentemente, LVH.

1.6 Medidas de controle e profilaxia

As medidas para o controle da LV estabelecidas inicialmente por Deane (1956) e adotadas pelo Ministério da Saúde brasileiro através do PVC-LV preconizam o diagnóstico e tratamento precoce dos indivíduos infectados; controle vetorial por aspersões de inseticidas (atualmente piretróides) com efeito residual; eutanásia dos cães soropositivos; além de uma sistemática vigilância, acompanhada de educação em saúde (Palatnik-de-Sousa *et al.*, 2001; Brasil, 2006).

Uma das medidas de controle do PVC-LV é a eutanásia dos cães soropositivos. Contudo, esta prática é cada vez mais questionada devido aos resultados controversos dos estudos que avaliam a eficiência de tal medida (Costa, 2011). Tem sido observado que esta prática leva à diminuição da transmissão da LV na área de cobertura com duração em médio prazo apenas (Moreno & Alvar, 2002). Além disso, outro problema relacionado à baixa efetividade desta medida de controle é o longo período entre o diagnóstico e a remoção dos cães, a baixa sensibilidade dos testes de diagnóstico e a reposição do cão submetido à eutanásia por outro suscetível que pode tornar-se infectado em aproximadamente dois meses (Dye, 1996; Moreira *et al.*, 2003; Dantas-Torres *et al.*, 2012; Grimaldi *et al.*, 2012b).

Outras medidas devem ser realizadas a fim de esclarecer a dinâmica da transmissão da *L. infantum* em cães, humanos e populações de vetores. Dentre estas se destacam a reestruturação da rede pública para o diagnóstico humano e canino; melhoria da atenção à saúde com o tratamento precoce dos casos humanos e redução da letalidade; primado da pesquisa científica qualificada que fornece uma sólida evidência de custo-efetividade para orientar a

incorporação de novos instrumentos de controle; saneamento ambiental; desenvolvimento de uma vacina para cães e humanos; disponibilidade de mais recursos para avaliar o comportamento das populações de flebotomíneos e fortalecimento da vigilância epidemiológica melhorando assim a qualidade dos dados, evitando a subnotificação de casos humanos e aprimorando o controle canino e vetorial (Romero & Boelaert, 2010; Werneck, 2016).

Considerando o aumento de casos de LV nos últimos anos no Brasil e o consequente impacto socioeconômico causado por esta doença, outra prática de grande relevância no controle da doença é a implementação de medidas de educação em saúde em áreas endêmicas. Estas devem ser realizadas em conjunto com as autoridades de saúde que precisam ser devidamente treinadas para informar a população sobre as principais formas de controle da LV, incluindo medidas de proteção individual e coletivas. Visitas domiciliares, discussões em escolas públicas e privadas com o objetivo de educar a população sobre a guarda responsável, bem-estar animal e também aspectos relacionados à prevenção da LVH e LVC são fundamentais neste contexto (Ribeiro *et al.*, 2013).

Desta forma, o controle da LV tem se mostrado bastante desafiador devido à falta de intervenções adequadas, bem como sua complexidade e diversidade de seus cenários de transmissão. Tudo isto demonstra a necessidade de um esforço conjunto pelos órgãos públicos responsáveis pelo controle da doença, pesquisadores e veterinários privados com o objetivo de implantar diversas ações além das já realizadas e descritas pelo programa de controle, a fim de minimizar e / ou mesmo impedir a dispersão desta doença (Silva *et al.*, 2015).

No estudo que relatam as dificuldades na execução das diretrizes do PVC-LV em grandes municípios brasileiros, foram mostrados alguns fatos que podem ajudar a explicar a ineficácia das atuais medidas de controle em reduzir a incidência de LV e limitar a disseminação geográfica da doença. Tais fatos são a descontinuidade das atividades de controle, resistência dos proprietários de cães com indicação à eutanásia e baixa cobertura do controle químico, o que deixa claro a necessidade de reavaliação da política brasileira de controle de LV (Zuben & Donalísio, 2016; Werneck, 2016).

Partindo do princípio de que os cães infectados desempenham um papel essencial na transmissão da LV ao homem em um ambiente urbano, uma estratégia de controle que pode ser eficaz, seria algo que diminuísse a incidência de infecção na população canina (Werneck, 2014). Considerando que a quimioterapia em cães doentes com medicamentos de uso humano não proporciona cura parasitológica e aumenta o risco de resistência as drogas disponíveis (Noli & Auxilia, 2005), o desenvolvimento de vacinas anti-LVC é uma das alternativas para controlar

a crescente expansão da doença (Hommel *et al.*, 1995; Gradoni, 2001; Mauel, 2002; Ravindran & Ali, 2004; Reis *et al.*, 2010).

Nas últimas décadas, vários candidatos vacinais têm sido propostos (Gradoni, 2001; Fujiwara *et al.*, 2005; Lemesre *et al.*, 2007; Giunchetti *et al.*, 2008a; Carrión *et al.*, 2011; Martins *et al.*, 2015). No Brasil, a vacina Leishmune[®] (atualmente produzida pela Pfizer-Zoetis) foi usada por muitos anos, desde de 2003. Hoje em dia, apenas uma vacina disponível comercialmente está em uso, a Leish-Tec[®] (Hertape Calier). A vacina Leishmune[®] é composta de um complexo fucose-manose ligando glicoproteico (FML) associada a saponina como adjuvante. Ela apresentou bom desempenho nos ensaios de Fase I e II (Tolerância e Imunogenicidade) (Silva *et al.*, 2001, Borja-Cabrera *et al.*, 2008) e o estudo de Fase III demonstrou 92% de proteção (Silva *et al.*, 2001). A Leish-Tec[®] consiste da proteína recombinante A2 em saponina (Borja-Cabrera *et al.*, 2008; Fernandes *et al.*, 2008; Regina-Silva *et al.*, 2016). Ela induz proteção parcial com aumento de IgG, IgG2 e IFN- γ , redução de IL-10, além de promover uma proteção em 3/7 cães em um estudo de Fase II em cães da raça Beagle (Fernandes *et al.*, 2008). Já no estudo de Fase III randomizado, realizado em cães de uma área endêmica no estado de Minas Gerais, foi observado que a vacina possui uma eficácia de 80,8% e uma redução de 46,6% na transmissão para flebotomíneos alimentados de cães vacinados durante o xenodiagnóstico (Regina-Silva *et al.*, 2016). Entretanto, estas vacinas ainda não têm sido utilizadas como medidas de controle pelo Ministério da Saúde Brasileiro. Na Europa vem sendo comercializada a vacina CaniLeish[®], e resultados promissores têm sido observados (Lemesre *et al.*, 2007; Moreno *et al.*, 2012).

Uma vacina desenvolvida por nosso grupo de pesquisa, composta por antígenos de *L. braziliensis* associado ao adjuvante saponina (LBSap), revelou em estudos de Fase I e II, um elevado potencial imunogênico por induzir aumento dos níveis de linfócitos T (CD5⁺, CD4⁺ e CD8⁺) e linfócitos B (CD21⁺) circulantes, bem como de linfócitos T CD8⁺ *Leishmania*-específicos (Giunchetti *et al.*, 2007; Giunchetti *et al.*, 2008b). Além disto, a vacina LBSap apresenta-se inócua e segura para a administração, sem causar lesões ulcerativas no local do inóculo (Giunchetti *et al.*, 2007; Giunchetti *et al.*, 2008a; Giunchetti *et al.*, 2008b; Vitoriano-Souza *et al.*, 2008; Moreira *et al.*, 2009). Também foi observado uma redução de 75% na disseminação do parasito na pele e de 54% na carga parasitária do baço após sua administração (Roatt *et al.*, 2012). Cães vacinados com a LBSap também apresentaram altos níveis de IL-12, IL10 e das quimiocinas CCL4, CCL5 e CXCL8 (Vitoriano-Souza *et al.*, 2013), bem como um aumento de IL-12, IFN- γ , óxido nítrico acompanhados de redução na carga parasitária (Resende

et al., 2013). Adicionalmente, a vacina LBSap apresenta extensa diversidade antigênica, induzindo respostas imunes humorais e celulares persistentes, indicando que a resistência contra LVC é desencadeada por níveis elevados de IgG total e de seus subtipos (IgG1 e IgG2); expansão de linfócitos T CD5⁺, CD4⁺, CD8⁺ que são *Leishmania* específica; levando a uma redução da carga parasitária do baço (Aguiar-Soares *et al.*, 2014).

Outra alternativa para o controle e proteção individual são os vários compostos que apresentam um efeito inseticida e repelente sobre o vetor. Neste cenário, os piretróides sintéticos são os produtos mais utilizados, combinando a eficácia contra o vetor e poucos efeitos tóxicos em cães. Diferentes produtos distinguem-se sobre os modos de aplicação sobre os animais. Entre eles, incluem os de liberação lenta, como as coleiras, *spot-on* e spray ou seja, formulações que apresentam diversas maneiras de liberar o inseticida, fornecendo uma proteção completa em diferentes épocas e exigindo distintos tempos de aplicações (Gramiccia, 2011).

Foi demonstrado que o uso de produtos *spot-on* (tópico) a base de permetrina (65%), em um estudo realizado numa área endêmica de LV, promoveu redução da incidência de infecção no grupo tratado (Giffoni *et al.*, 2002). Courtenay *et al.* (2007) testaram no Brasil o uso de cortinados impregnados com deltametrina como uma barreira física em comparação aos cortinados não tratados. Os achados iniciais apontaram que esta estratégia aumentou o efeito como barreira física, bem como a mortalidade de flebotomíneos. Esta medida tem sido utilizada em outros países com resultados promissores (Bern *et al.*, 2000; Ritmeijer *et al.*, 2007; Mondal *et al.*, 2016).

Uma outra opção proposta para cães foi o uso tópico *pour-on* (específicos para aplicação no dorso do animal) à base de duas formulações de deltametrina (concentrado para emulsão e concentrado em suspensão) com o qual foi observado uma proteção e efeito repelente por até 8 meses. Estes achados mostraram que esta prática ofereceu potencial proteção, semelhante à utilização de coleiras de cão impregnadas com deltametrina ou em re-impregnação de mosquiteiros convencionais (Quinnell & Courtenay, 2009; Courtenay *et al.*, 2009). Em um estudo realizado na Espanha testando combinações de inseticidas contra flebotomíneos, foi mostrado que o uso combinado de repelentes contra LV diminuiu a soroprevalência da doença (Goyena *et al.*, 2016). Otranto & Dantas-Torres (2013) acrescentam que o uso de repelentes inclusive sob forma de coleiras pode fornecer alta proteção, tanto no nível individual quanto no nível populacional. Entretanto, os custos das campanhas de controle no âmbito populacional são muitas vezes pouco acessíveis para governos locais de países em desenvolvimento.

Coleiras impregnadas com deltametrina são uma medida importante para a prevenção do indivíduo, uma vez que elas atuam como um repelente eficaz contro o vetor, promove o aumento da mortalidade de flebotomíneos, além de diminuir a prevalência e a incidência da infecção canina (David *et al.*, 2001; Werneck, 2014; Sevá *et al.*, 2016). O mecanismo de repelência é pouco estudado, mas supõe-se que o inseticida atua nos órgãos sensitivos do vetor juntamente com a combinação de gás carbônico e odores exalados pelo hospedeiro afetando a sua atração à picada (Killick-Kendrick, 1990). O longo tempo de efeito que a coleira apresenta é explicado pela liberação da deltametrina induzida pelo atrito do colar com o pescoço do cão, o que provoca uma deposição contínua do inseticida na pele. Em função da deltametrina ser lipolítica, como todos os piretróides sintéticos, ela dissolve-se nos lipídeos presentes na pele do cão, espalhando-se por todo o corpo do animal e protegendo-o contra picadas (Killick-Kendrick, 1999; David *et al.*, 2001). Alguns experimentos demonstraram que o efeito das coleiras (repelente e letal) sobre os flebotomíneos ocorre uma a duas semanas após sua colocação (Killick-Kendrick *et al.*, 1997; David *et al.*, 2001), que corresponde ao tempo necessário para que a deltametrina se espalhe pelo corpo do cão.

O estudo de Reithinger *et al.* (2004) realizado em uma área endêmica do Brasil, mostrou que o impacto do uso de coleiras impregnadas pode ser maior do que o obtido pela estratégia de eutanásia, contudo dependente da cobertura obtida com uso da coleira e das perdas ocorridas na manutenção das mesmas. Neste estudo foram colocadas coleiras impregnadas com deltametrina em 136 cães, por um período de 5 meses e foi observado uma redução significativa da probabilidade de aumentar títulos de anticorpos anti-*Leishmania* em 50% dos animais em comparação aos 97 cães não encoleirados, sugerindo que o uso da coleira pode reduzir o risco de infecção por LV.

Em uma pesquisa no sul da Itália, foi demonstrada que com o uso da coleira impregnada com deltametrina obteve-se até 86 % de proteção contra a infecção canina em um período em que a transmissão da doença se mostrou mais intensa (Maroli *et al.*, 2001). No Irã, um estudo piloto de campo realizado em uma área endêmica, onde analisaram os efeitos da coleira impregnada com deltametrina em cães contra picadas de *P. papatasi*, os autores mostraram que cães usando a coleira receberam cerca de 80% menos picadas de flebotomíneos (Halbig *et al.*, 2000). Já em um estudo randomizado em aldeias no Irã, foi constatado que tal intervenção não só protege os cães, como relataram que a taxa de soroconversão em crianças foi de 1,49% nas aldeias de intervenção e 2,4% nas aldeias de controle (Mazloumi Gavgani *et al.*, 2002). Em uma coorte de 120 cães clinicamente saudáveis e soronegativos, Foglia-Manzillo *et al.* (2006)

mostraram proteção de 50,8% com o uso da coleira. Feroglio et al. (2008) também demonstraram que elas são eficazes na redução do risco de infecção por *L. infantum*.

Foi relatado na Tunísia num estudo envolvendo 80 cães (42 com coleira e 38 sem coleira), que 15,8% dos cães do grupo sem coleira se infectaram, enquanto nenhum do grupo coleira foi infectado, mostrando que a coleira possui propriedade profilática na LVC (Aoun *et al.*, 2008). Já no Sul da França, cães sem coleiras tiveram 10,4 vezes mais chances de serem infectados do que os cães protegidos com coleira (Davoust *et al.*, 2013). Sevá et al. (2016) mediante o uso de modelos matemáticos observaram que a aplicação simulada de coleiras em 90% da população canina induziu uma maior e forte redução da soroprevalência de LV entre cães e humanos, de 27,1 para 0,2% e de 4,85 para 0,06%, respectivamente.

Apesar da implementação de variadas medidas de controle determinadas pelo PVC-LV, têm sido observadas crescente expansão e urbanização da LV por todas as regiões brasileiras. Uma das medidas adotadas pelo PVC-LV é a erradicação de cães sororreativos para leishmaniose, uma vez que estes animais são reservatórios do parasito. Entretanto, a eutanásia de animais domésticos é sempre traumática e pouco eficaz na redução do número de casos humanos. Diante disto, o emprego de coleira impregnada com inseticida se torna uma alternativa interessante para o controle da doença, ao possibilitar reduzir a incidência da infecção por *L. infantum* em populações caninas e, conseqüentemente, em populações humanas. Contudo, até o momento esta medida vem sendo utilizada por alguns proprietários de forma isolada, e há poucos estudos que analisam o uso da coleira em uma grande população de cães. Sendo assim, avaliar a efetividade desta coleira na redução da incidência de infecção por *L. infantum* é de grande importância e poderão contribuir para avaliar o impacto da implementação desta coleira pelo PVC-LV, colaborando assim com o controle desta doença no Brasil.

2. HIPÓTESE

O uso em larga escala da coleira impregnada com inseticida deltametrina reduz a incidência de leishmaniose visceral canina em uma área urbana endêmica.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Analisar a efetividade de uma coleira impregnada com o inseticida deltametrina na redução da incidência de infecção por *L. infantum* em uma área urbana endêmica do estado de Minas Gerais.

3.2 Objetivos Específicos

- ✓ Estimar a soroprevalência de infecção canina por *L. infantum* em Governador Valadares;
- ✓ Caracterizar os proprietários quanto aos aspectos socioeconômicos e os cães pelo perfil clínico e comportamental;
- ✓ Investigar fatores associados ao risco de infecção canina por *L. infantum*;
- ✓ Selecionar animais soronegativo para compor os grupos investigados (coleira e sem coleira);
- ✓ Estimar a incidência da infecção por *L. infantum* em cães do grupo coleira e sem coleira;
- ✓ Avaliar a efetividade da coleira impregnada com inseticida deltametrina na redução da incidência de infecção canina por *L. infantum*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Área de estudo

Fundada em 30 de janeiro de 1938, Governador Valadares está situada na região leste do estado de Minas Gerais, Brasil, entre a latitude 18° 51' 01" S e longitude 41° 56' 18" W (Figura 2), constituindo um polo econômico do médio Vale do Rio Doce exercendo significativa influência sobre o leste e nordeste de Minas Gerais e municípios do estado do Espírito Santo. Situa-se a 324 quilômetros de Belo Horizonte - MG e a 410 quilômetros de Vitória - ES. O município é servido pela ferrovia Vitória-Minas da Companhia Vale do Rio Doce e pela rodovia Rio-Bahia (BR 116), estando também ligada à capital do estado pela BR 381, além do acesso aeroviário.

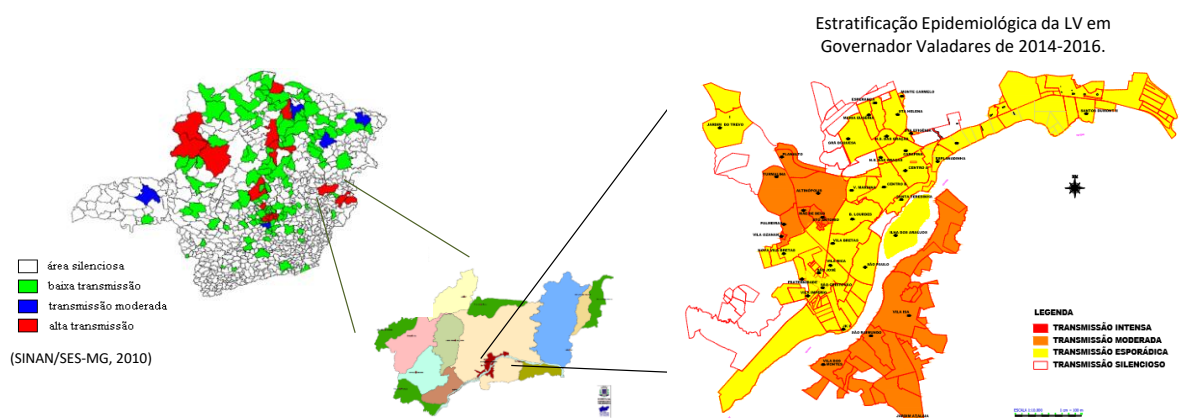


Figura 2: Localização Geográfica do Município de Governador Valadares, Minas Gerais, Brasil.

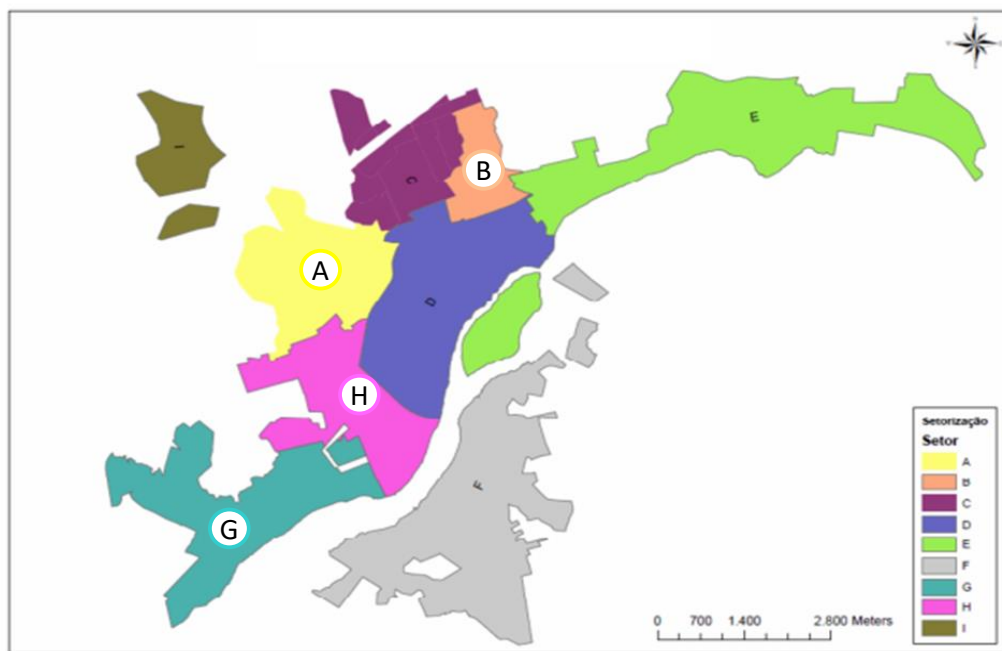
Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE, a cidade possui uma população estimada em 2016 de 279.665 habitantes que se encontram distribuídos em mais de 100 bairros da região urbana e em mais de 10 distritos sitiados na zona rural (IBGE, 2017). Para a identificação das áreas de maior número de casos e prioridade das atividades de controle, a cidade foi dividida em 9 setores (A a I) pelo PVC-LV, com base na proximidade entre eles e características socioeconômicas e ambientais semelhantes (Quadro 1).

A cidade de Governador Valadares foi selecionada para o estudo devido a sua elevada taxa de casos humanos e caninos de LV (Malaquias *et al.*, 2007; Barata *et al.*, 2013), além do apoio logístico disponibilizado pela Secretaria Municipal de Saúde.

Setores	Bairros
A	Altinópolis, Santo Antônio, Mãe de Deus, Palmeiras, Vila Ozanan, Planalto, Turmalina e adjacentes.
B	Santa Helena, Santa Efigênia, Carapina, Nossa Senhora das Graças, Monte Carmelo e adjacentes.
C	Esperança, Maria Eugênia, Grã-Duquesa, Morada do Vale e adjacentes.
D	Centro, São Tarciso, Vila Mariana, Lourdes, Vila Bretas, São Paulo e adjacentes.
E	Esplanada, Ilha dos Araújos, São Pedro, Universitário, Cardo, Santos Dumont, Conjunto Sir, Capim e adjacentes.
F	Vila Isa, São Raimundo, Elvamar, Jardim Ipê, Asteca, Jardim Atalaia, Vila dos Montes, Vera Cruz, Vila do Sol, Conquista e adjacentes.
G	Nova Santa Rita, Santa Rita, Penha, Novo Horizonte, Castanheiras, Figueira do Rio Doce e adjacentes
H	Nova Vila Bretas, São José, São Cristóvão, Vila Império, Jardim Pérola, JK I, II e III, Jardim Alice, Fraternidade, Jardim Kennedy, Bela Vista, Vila Rica e adjacentes.
I	Jardim do Trevo, Santa Paula e adjacentes.

Quadro 1: Discriminação dos bairros por setores (A-I), Governador Valadares- MG (Fonte: Pinheiro, 2014).

Neste estudo foram selecionados quatro setores urbanos que apresentaram elevadas prevalências de LVC (Quadro 1), segundo o Centro de Controle de Zoonoses e Secretaria Municipal de Saúde de Governador Valadares (CCZ/SMS-GV). As áreas do setor A e H foram selecionadas para fazermos a intervenção com a coleira e os setores B e G como região dos animais controle (sem coleira) (Figura 3). Ambos os setores possuem características semelhantes no quesito limpeza urbana, presença de animais errantes na rua e devido à alta temperatura ambiente são arborizadas com presença de matéria orgânica abundante, entre outras características (Figura 4). As áreas foram selecionadas conforme a logística realizada pelo CCZ/SMS-GV.



Fonte: GEPI/DVS/SMS-GV

Figura 3: Distribuição dos bairros por setores (A a I) no município de Governador Valadares – MG.



Figura 4: Representação das características dos bairros por setores A e H (área coleira) e setores B e G (área sem coleira), no município de Governador Valadares – MG.

4.2 Delineamento do estudo

Este trabalho foi composto de duas etapas: estudo transversal e estudo de intervenção. Estas etapas encontram-se descritas abaixo:

4.2.1 Estudo Transversal

O estudo transversal iniciou em agosto de 2014 e foi realizado de forma censitária nas áreas predefinidas dos setores A, B, G e H (Quadro 1). As ações acompanharam a rotina dos agentes de endemias do município e, inicialmente, foi realizada uma explicação à população sobre o projeto com a assinatura pelos participantes do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice 10.1).

Caso o proprietário do animal desejasse participar do projeto prosseguia-se com uma vistoria do local com busca ativa de condições que podem possibilitar a presença do inseto vetor, além da aplicação da ficha de identificação dos proprietários (Apêndice 10.2). Por fim, a coleta da amostra de sangue dos cães foi realizada pelos agentes de endemias previamente treinados em punção venosa. Além desta equipe, o trabalho contou com veterinários do CCZ que ofereceram suporte técnico e clínico para qualquer eventualidade. Posteriormente, foi realizada a orientação aos moradores quanto às ações de controle da doença com distribuição de folheto informativo e preenchimento de relatórios.

Foram entrevistados 3854 proprietários de 5851 cães onde eles foram questionados sobre a presença anterior de cão com LVC; se a casa já havia sido borrifada para controle de leishmaniose pelo CCZ; seu conhecimento sobre a doença, o vetor e os hospedeiros; condições socioeconômicas e de moradia; comportamento do cão e cuidados com o animal. Foi preenchida além da ficha de identificação dos proprietários, uma outra ficha contendo as características e dados clínicos de cada cão da residência como sexo; porte; pelo; onde o cão fica e dorme a maior parte do dia; se o cão foge para a rua (Apêndice 10.3) dentre outros.

Para evitar a introdução de vícios de informação os funcionários foram previamente treinados para as entrevistas. No decorrer do estudo foram realizadas reuniões de avaliação e padronização das condutas, sendo o trabalho acompanhado durante todo o tempo, garantindo que as instruções fossem seguidas. Os agentes de endemias foram orientados a serem imparciais, evitando interpretar, aprovar ou desaprovar as respostas dos entrevistados. As entrevistas foram respondidas por um dos responsáveis pela família ou por pessoas maiores de 18 anos.

Neste estudo transversal, além da entrevista foram coletadas amostras de sangue dos cães da residência para realizar a sorologia. Nos casos de sorologia positiva na reação de DPP, a técnica de ELISA foi também empregada. Quando o animal apresentou resultados reativos em ambos os testes, o proprietário foi informado e teve o direito de realizar outro exame para contraprova. O animal que teve sua contraprova positiva foi então recolhido e submetido à eutanásia conforme critérios estabelecidos pela Resolução nº 1000, de 11 de maio de 2012 do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV), e os cadáveres foram encaminhados para o aterro controlado do município de Ipatinga - MG. O animal que apresentou DPP positivo e ELISA negativo foi considerado não elegível para fazer parte do estudo. Os cães que apresentaram DPP negativo foram os cães elegíveis para compor o estudo de intervenção (Figura 5).

Diariamente, após o término das entrevistas e coletas de sangue, todos os tubos com sangue foram conferidos pelos laboratoristas, verificando-se o código da coleta e a qualidade do sangue coletado dos cães, garantindo assim a correta codificação e análise do material. Todos os questionários também foram inspecionados pela coordenadora do programa de LV, afim de averiguar o correto preenchimento das informações. Todo o material coletado foi utilizado para os testes de diagnóstico e estocados adequadamente em local apropriado para conservação e eventuais análises.

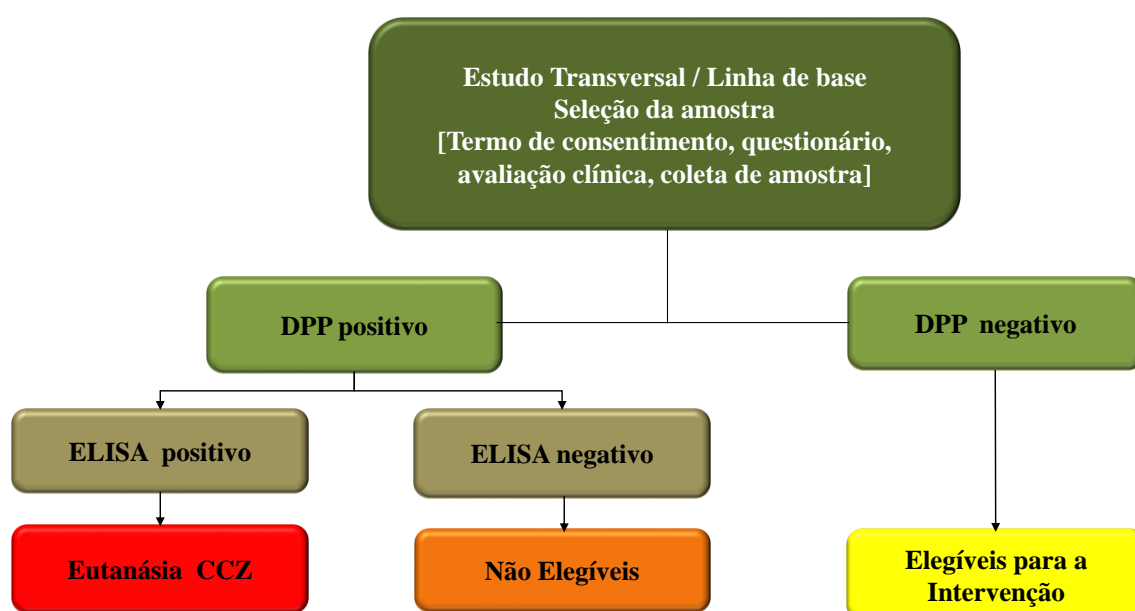


Figura 5: Delineamento do estudo transversal.

4.2.2 Estudo de Intervenção não randomizado

O estudo de intervenção não randomizado iniciou-se logo após obtenção dos resultados sorológicos (DPP). Ele teve como critério de inclusão o animal estar apresentando a forma clínica assintomática e apresentar sorologia negativa para *L. infantum*, bem como os critérios de exclusão o animal ser positivo em um teste (DPP) ou em ambos testes (DPP-ELISA). Os cães elegíveis do setor A e H foram encoleirados e do setor B e G acompanhados como grupo controle (sem coleira). A intervenção avaliada foi o uso da coleira de cloreto de polivinilclorido (PVC) impregnada com deltametrina na concentração de 40 mg/g, com o peso de aproximadamente 25g, denominadas Scalibor® ProtectorBands (Intervet). A primeira intervenção ocorreu logo após o resultado sorológico e a segunda após seis meses (tempo de atuação residual do inseticida de acordo com a informação técnica do fabricante - 6 meses) quando foi feita nova avaliação clínica e coleta de sangue de todos os cães e entrevista aos proprietários. Foi realizado o re-encoleiramento dos cães que não soroconverteram e pertenciam ao grupo coleira. A terceira intervenção ocorreu após seis meses da segunda intervenção quando foi realizada nova avaliação clínica e coleta de sangue dos animais, além de monitoramento e entrevista aos proprietários (Figura 6).

Os proprietários dos cães soronegativos foram informados sobre a continuidade do projeto e os que tiveram interesse em continuar, assinaram outro Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - Ficha de retorno I (Apêndice 10.4) e/ou Ficha de retorno II (Apêndice 10.5) quando houve nova coleta de sangue dos cães após 6 e 12 meses aproximadamente.

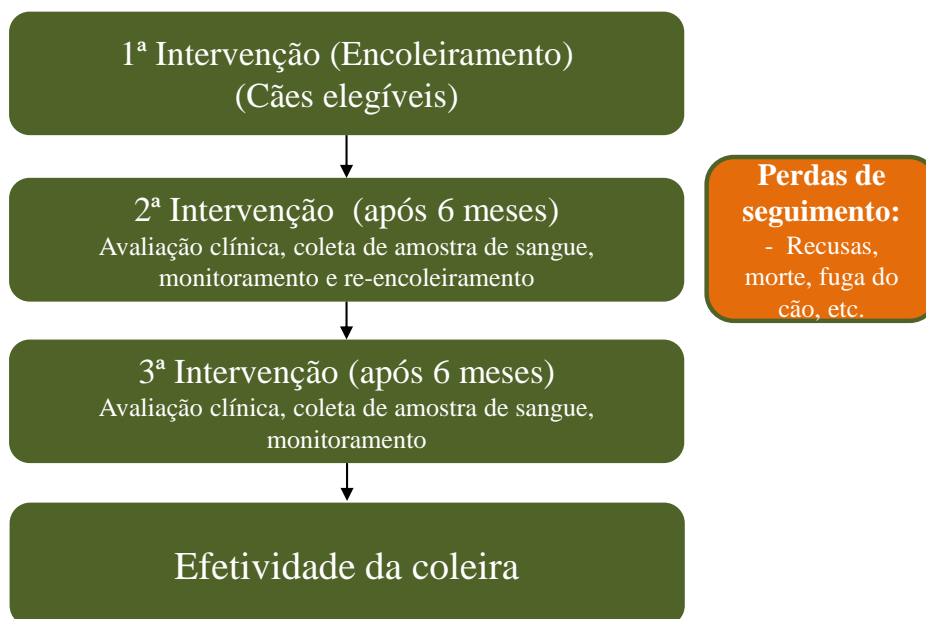


Figura 6: Delineamento do estudo de intervenção.

4.3 Cálculo da amostra e amostragem

Segundo o Centro de Controle de Zoonoses, o município de Governador Valadares possui uma população canina de aproximadamente 20.000 cães na zona urbana, de acordo com as três últimas campanhas de vacinação antirrábica realizadas. A estimativa do número de cães foi baseada na média das três últimas campanhas acrescentada de 20%, uma vez que a meta a ser atingida em cada campanha é de 80% dos animais existentes no município.

Para a realização do estudo a amostra foi calculada de acordo com os seguintes parâmetros: intervalo de confiança (IC) de 95%, poder do teste de 80%, perda de seguimento de 40%, eficácia da coleira de 50%, prevalência de infecção de 30,2%. O tamanho da amostra para cada grupo foi de aproximadamente 2000 cães. Como o critério de inclusão no estudo é que o animal seja soronegativo e a prevalência de infecção na área é de aproximadamente 30,2%, pelo ELISA, na linha de base foram selecionados aproximadamente 6.000 cães para triagem sorológica (DPP - ELISA).

4.4 Coleta da amostra e avaliação clínica

Foi realizada a coleta de 5 ml de sangue venoso da veia radial de cães de grande porte e da veia jugular de cães de médio e pequeno porte, utilizando agulhas de 25x7 mm de diâmetro e seringas estéreis. As amostras foram armazenadas em tubos de vidro e colocadas em caixas térmicas contendo gelo reutilizável. O material foi encaminhado para o Laboratório de Sorologia do CCZ-GV para separação, processamento e armazenamento do soro. As coletas realizadas no período da manhã foram centrifugadas à tarde, e as realizadas no período da tarde foram centrifugadas no dia posterior, pela manhã. As amostras coletadas nas sextas-feiras e vésperas de feriado foram centrifugadas no mesmo dia. As amostras hemolisadas, foram desprezadas e novas coletas realizadas para obtenção do soro. O soro gerado neste processamento foi devidamente armazenado em freezers a -20°C .

Juntamente com a obtenção de amostras do sangue periférico, os animais passaram por uma avaliação clínica rigorosa baseada na presença ou ausência de sinais clínicos sugestivos da infecção por *L. infantum* tais como: onicogribose, atrofia muscular, lesões de pele, dermatite furfurácea, alopecia, ceratoconjuntivite, paralisia dos membros posteriores, emagrecimento, dentre outras (Mancianti *et al.*, 1988; Reis *et al.*, 2006). A avaliação clínica foi realizada pelos agentes de endemias do Programa de Leishmaniose do CCZ-GV, capacitados na identificação dos diversos sinais clínicos característicos da LVC.

4.5 Análise estatística dos dados

As informações coletadas e os resultados gerados foram duplamente digitados utilizando o software EpiData (versão 3.2). Após a digitação, os arquivos foram comparados e as divergências corrigidas. Posteriormente, foi testada a consistência do banco de dados e realizadas análises exploratórias dos dados (análises gráficas e medidas resumo) comparações de médias e proporções (teste t e Qui-quadrado). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa STATA versão 11.0 (StataCorp, 2009).

4.5.1 Análise do estudo transversal

4.5.1.1 Análise univariada

A identificação dos possíveis fatores de risco envolvidos na infecção por *L. infantum* foi obtida comparando animais soronegativos (não infectados) com os soropositivos (infectados). Inicialmente foi realizado o teste de qui-quadrado, para averiguar a existência de associação entre a infecção e cada variável relacionada ao cão, suas condições de moradia e cuidados do proprietário com o animal.

Para a análise univariada relacionada às variáveis da residência foi utilizada a regressão logística univariada de efeito misto. O nível de efeito avaliado no modelo foi a residência, pois no processo de amostragem todos os cães existentes no domicílio foram selecionados para o estudo, visto que algumas casas tinham mais de um cão. Este modelo assume dependência nas observações de um mesmo domicílio e independência entre os domicílios. Na análise univariada foram comparadas todas as variáveis do domicílio entre animais infectados e não infectados. Variáveis com mais de duas categorias foram transformadas em variáveis *dummies*. As variáveis que apresentaram nível de significância menor que 0,25 foram selecionadas para compor as análises multivariadas em modelos intermediários.

4.5.1.2 Análise multivariada e construção do modelo final

Aquelas variáveis que permaneceram nos modelos intermediários nível de significância de $p < 0,15$ foram reagrupadas em um modelo único e novamente avaliadas pelo o modelo completo com descarte sucessivo de variáveis. Nesta etapa, utilizou-se o nível de significância de 0,05, isto é, as variáveis que apresentaram $p > 0,05$ foram retiradas do modelo passo a passo. Em cada uma das etapas de avaliação do modelo foi testada a colinearidade das variáveis, eliminando aquelas correlacionadas.

4.5.2 Análise do estudo de intervenção

4.5.2.1 Análise de incidência pessoa-tempo

As taxas de incidência de soroconversão foram estimadas para cada momento de avaliação do estudo de intervenção (6 e 12 meses). Nos denominadores das taxas foram utilizados cão/tempo de acompanhamento e intervalo de confiança de 95%. Os cães censurados foram considerados na análise como se estivessem sido acompanhados por um período de tempo igual a metade do tempo médio de intervalo entre as intervenções (3 meses). Todas as análises de incidência e de efetividade foram analisadas por intenção de tratar e por protocolo. Uma análise por intenção de tratar é aquela em que todos os participantes de todos os grupos são seguidos até o fim, independentemente do que ocorrer com cada um deles. Já na análise por protocolo são avaliados apenas os integrantes dos grupos que efetivamente utilizaram a intervenção, ou sejam que permaneceram até o final do estudo com a coleira.

4.5.2.2 Análise de efetividade da coleira

Realizou-se a análise univariada através modelos de regressão de Cox para examinar as associações entre cada variável e o tempo de soroconversão. Um modelo multivariável foi realizado com as variáveis que foram estatisticamente significativas na análise univariada com $p < 0,25$. Foi utilizado um procedimento de retirada passo a passo das variáveis e somente as variáveis ajustadas mostrando associação significativa ($p < 0,05$) com a ocorrência de soroconversão da LVC permaneceram nos modelos finais. A variável intervenção foi mantida no modelo final para verificar a efetividade da coleira. Para os cálculos de efetividade (EF) do uso da coleira impregnada com deltametrina no controle da LV, empregou-se a seguinte fórmula: $EF = 1 - RR_{ajustado}$.

4.6 Aspectos éticos

O projeto segue os princípios internacionais para a pesquisa biomédica envolvendo animais e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFOP, protocolo nº 2014/18 (Anexo 11.1). Todos os participantes tiveram o direito de recusa em qualquer momento do estudo.

5. RESULTADOS

5.1 Estudo transversal

5.1.1 Características socioeconômicas, condições de moradia dos proprietários e conhecimento sobre o vetor

Em relação às condições socioeconômicas foram avaliadas variáveis de escolaridade, casa e classe socioeconômica (Tabela 1). Quanto ao nível de escolaridade, 35,0% dos responsáveis pela residência possuem até o ensino fundamental incompleto. Em relação à moradia, 85,1% dos entrevistados possuem casa própria/em financiamento. Já sobre a classe socioeconômica, 38,5% recebem até quatro salários mínimos, mesma proporção observada para aqueles que recebem entre quatro e seis salários mínimos, o que caracteriza os participantes como cidadãos pertencentes às classes C1 e C2/D/E.

Tabela 1: Distribuição de frequências das variáveis relacionadas às características socioeconômicas da população total do estudo, Governador Valadares, MG, 2014-2015.

Variável	N	%
Escolaridade		
Analfabeto/Primário incompleto/ Primário completo/Fundamental incompleto	1.341	35,0
Fundamental completo/ Médio incompleto	1.290	33,7
Médio completo/Superior incompleto/ Superior completo	1.199	31,3
Casa		
Própria/ Em financiamento	3.258	85,1
Alugada	570	14,9
Classe socioeconômica		
A2/ B1	154	4,0
B2	724	18,9
C1	1.475	38,5
C2/D/E	1.475	38,5

* A2/ B1= classe que recebe mais de 10 salários mínimos (Salário mínimo em R\$788,00).

B2 = classe que recebe entre 6 a 10 salários mínimos.

C1 = classe que recebe entre 4 a 6 salários mínimos.

C2/D/E = classe que recebe menos de 4 salários mínimos.

Fonte: Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa (Abep).

Tratando-se das variáveis relacionadas às características do domicílio e peridomicílio dos entrevistados (Tabela 2), foi observado que 33,2% das pessoas já tiveram cão com LVC na residência, 41,3% das residências estudadas já foram borrifadas contra LVC. Entre os entrevistados, 81,5% possuem casa independente e em 71,4% das casas há quintal, destes 39% são cimentados. Um percentual de 25,3% das casas possuía canteiro de plantas; 11,3% bananeiras; 21,3% lixo exposto; 26% entulhos; 25,4 % monte de folhas; 45,3% árvores; 6,6% esterco; 14,5% galinhas; 0,4% cavalos; 13,4% gatos; 20,3% passarinhos e 4,2 % outros animais

(preá, coelho). Em algumas variáveis, algumas pessoas não souberam e/ou não quiseram responder ao questionário.

Tabela 2: Distribuição de frequências das variáveis relacionadas ao domicílio e peridomicílio da população total do estudo, Governador Valadares, MG, 2014-2015.

Variável	N	%
Já teve cão com LVC		
Sim	1.275	33,2
Não	2.560	66,8
Casa já foi borrifada		
Sim	1.582	41,3
Não	2.251	58,7
Tipo de residência		
Casa independente	3.121	81,5
Comércio	44	1,2
Casa geminada/ Núcleo Familiar	612	16,0
Apartamento	51	1,3
Há quintal		
Sim	2.739	71,4
Não	1.095	28,6
Características do quintal		
Cimento	1.067	39,0
Terra/ Barranco	711	25,9
Cimento e terra	962	35,1
Canteiro de plantas		
Sim	970	25,3
Não	2.865	74,7
Bananeiras		
Sim	432	11,3
Não	3.403	88,7
Lixo exposto		
Sim	816	21,3
Não	3.019	78,7
Entulho		
Sim	996	26,0
Não	2.839	74,0
Monte de folhas		
Sim	973	25,4
Não	2.862	74,6
Árvores		
Sim	1.738	45,3
Não	2.097	54,7
Esterco		
Sim	252	6,6
Não	3.583	93,4
Galinhas		
Sim	555	14,5
Não	3.280	85,5
Cavalos		
Sim	14	0,4
Não	3.821	99,6
Gatos		
Sim	515	13,4
Não	3.320	86,6
Passarinhos		
Sim	777	20,3
Não	3.058	79,7
Outros animais		
Sim	161	4,2
Não	3.664	95,8

Com relação ao conhecimento do proprietário sobre o vetor da leishmaniose, foi constatado que quando os entrevistadores mostravam o flebotomíneo aos moradores, a maioria relatou nunca ter o visto (96,7%). Dos 127 entrevistados que afirmam já ter visto o vetor, 25 (19,7%) já viram dentro de casa; 5 (3,9%) no galinheiro; 60 (47,2%) no quintal; 7 (5,5%) no curral e 33 (26,0%) em outros locais (roça, escola, televisão) (Tabela 3).

Tabela 3: Distribuição de frequências das variáveis relacionadas à visualização do vetor pela população total do estudo, Governador Valadares, MG, 2014-2015.

Variável	N	%
Já viu vetor		
Sim	127	3,3
Não	3.708	96,7
Dentro de casa		
Sim*	25	19,7
Não	102	80,3
Galinhheiro		
Sim*	5	3,9
Não	122	96,1
Quintal		
Sim*	60	47,2
Não	67	52,8
Curral		
Sim*	7	5,5
Não	120	94,5
Outros lugares		
Sim*	33	26,0
Não	94	74,0

*Porcentagem referente ao número de proprietários que já viram o vetor (N=127).

5.1.2 Características dos cães

A caracterização dos 5851 cães avaliados e os cuidados do proprietário para com o seu cão, estão descritos na Tabela 4. Observou-se que a idade média dos animais avaliados foi de 38,4 meses (DP: 35,6). Destes, 53,3% são fêmeas, que apresentam porte pequeno (51,1%) e pelo curto (69,2%). Quando perguntado ao proprietário se o animal já usou coleira impregnada com inseticida, foi verificado que apenas 4,9% dos cães já usaram. Quanto a realização de exame prévio contra LVC, observou-se que 42,5% dos animais já fizeram o exame, 0,7% dos proprietários relataram que seu cão foi positivo para LVC. Apenas 17,5% dos cães são levados ao veterinário pelo dono, 1,4% afirmaram ter vacinado seu cão contra LVC. A maioria dos cães (56,7%) ficam e (57,3%) dormem no quintal/canil/casinha/outros lugares, 27,5% possuem o hábito de fugir da residência para a rua. Em relação ao controle de ectoparasitos, 23,7% dos proprietários já observaram carrapato em seus animais, enquanto que 35,7% afirmaram dar

banho regularmente em seus cães utilizando shampoo contra pulgas e carrapatos, e 1,6% relataram o uso de shampoo a base de citronela em seus cães.

Tabela 4: Características da população total dos cães do estudo e os cuidados dos proprietários, Governador Valadares, MG, 2014-2015.

Variável	N	%
Sexo		
Macho	2.718	46,7
Fêmea	3.104	53,3
Porte		
Pequeno	2.973	51,1
Médio	2.144	36,8
Grande	705	12,1
Pelo		
Curto	4.029	69,2
Longo	1.793	30,8
Já usou coleira impregnada com inseticida		
Sim	287	4,9
Não	5.532	95,1
Exame prévio para LVC		
Sim	2.461	42,5
Não	3.327	57,5
Resultado do exame prévio para LVC		
Positivo	17	0,7
Negativo	2.424	99,3
Leva o cão ao veterinário		
Sim	1.019	17,5
Não	4.800	82,5
Cão vacinado contra LVC		
Sim	80	1,4
Não	5.718	98,6
Quando vacinou		
Este ano	24	30,8
Ano passado	39	50,0
A mais de um ano	15	19,2
Onde o cão fica		
Dentro de casa	783	13,4
Quintal/canil/casinha/outros lugares	3.299	56,7
Na varanda	1.653	28,4
Na rua	87	1,5
Onde o cão dorme		
Dentro de casa	779	13,4
Quintal/canil/casinha/outros lugares	3.333	57,3
Na varanda	1.649	28,3
Na rua	61	1,0
Cão foge para a rua		
Sim	1.602	27,5
Não	4.219	72,5
Presença de carrapato no cão		
Sim	1.379	23,7
Não	4.438	76,3
Uso de shampoo contra pulgas e carrapatos		
Sim	2.079	35,7
Não	3.739	64,3
Uso de Shampoo a base de citronela		
Sim	94	1,6
Não	5.725	98,4

Sobre os sinais clínicos foi observado que 537 cães (9,2%) apresentaram sinais sugestivos de LVC, sendo os mais frequentes: lesões cutâneas no animal [n=301 (56,1%)], onicogribose [n=270 (50,2%)], emagrecimento [n=197 (36,7%)], perda de pelo [n=158 (29,4%)], pelo opaco e conjuntivite [n=142 (26,4%)], e coriza [n=105 (19,6%)] (Tabela 5).

Tabela 5: Sinais clínicos sugestivos de LVC encontrados em todos os cães avaliados, Governador Valadares, 2014-2015.

Variável	N	%
Presença de sinais clínicos		
Sim	537	9,2
Não	5.284	90,8
Perda de pelo		
Sim*	158	29,4
Não	379	70,6
Onicogribose		
Sim*	270	50,2
Não	267	49,8
Pelo opaco		
Sim*	142	26,4
Não	395	73,6
Anorexia		
Sim*	83	15,5
Não	454	84,5
Coriza		
Sim*	105	19,6
Não	432	80,4
Hepato e/ou esplenomegalia		
Sim*	31	5,8
Não	506	94,2
Lesões cutâneas		
Sim*	301	56,1
Não	236	43,9
Conjuntivite		
Sim*	142	26,4
Não	395	73,6
Desânimo		
Sim*	83	15,5
Não	454	84,5
Emagrecimento		
Sim*	197	36,7
Não	340	63,3
Diarreia		
Sim*	45	8,4
Não	302	91,6
Vômito		
Sim*	45	8,4
Não	302	91,6
Paralisia dos membros		
Sim*	20	3,7
Não	517	96,3

*Porcentagem referente ao número de animais que apresentaram sinais clínicos da doença (N=537).

5.1.3 Prevalência de infecção por *Leishmania infantum*

Das 5851 amostras de sangue canino coletada para realização dos testes sorológicos (DPP - ELISA), 2054 foram DPP positivos para leishmaniose, sendo a prevalência de infecção de 35,1% (IC95% 33,9 – 36,3). Dos animais que foram positivos pelo DPP, um total 1282 (21,9%) dos cães apresentaram resultado positivo no ELISA, e 743 (12,7%) dos cães foram DPP positivo e ELISA negativo. Desta forma, como os testes são realizados em série, a prevalência final de infecção por DPP e ELISA foi de 21,9% (IC95% 20,9 – 23,0). A prevalência de infecção por *L. infantum* nos cães da área sem coleira foi de 21,1% e da área coleira foi de 22,9%.

5.1.4 Análise dos fatores de risco para infecção canina

Para a identificação dos fatores de risco relacionados à infecção por *L. infantum*, primeiramente foi realizada a análise univariada comparando os animais infectados com os não infectados, sendo empregada a regressão logística de efeito misto quando avaliada no âmbito da residência (n= 3854). As variáveis analisadas foram coletadas na entrevista e registradas na ficha do proprietário do animal. Foram selecionadas inicialmente, as que tiveram nível de significância ($p < 0,25$) e aquelas consideradas importantes na transmissão da LVC, tais como: variáveis relacionadas a escolaridades e condições socioeconômicas (Tabela 6), variáveis relacionadas às características do domicílio e peridomicílio (Tabela 7) e variáveis relacionadas ao vetor (Tabela 8). Algumas pessoas não souberam e/ou não quiseram responder parte do questionário.

Tabela 6: Análise univariada das variáveis relacionadas a escolaridades e condições socioeconômicas de toda população do estudo, Governador Valadares, MG, 2014-2015.

Variável	DPP-ELISA		Univariada OR (95% IC)	P
	Positivo (%)	Negativo (%)		
Escolaridade				
Analfabeto/Primário incompleto/Primário completo/Fundamental incompleto	324 (24,2)	1017 (75,8)		
Fundamental completo/Médio incompleto	270 (20,9)	1020 (79,1)	0,8 (0,7-1,0)	0,034
Médio completo/Superior incompleto/Superior completo	236 (19,7)	963 (80,3)	0,7 (0,6-0,9)	0,001
Casa				
Própria/ Em financiamento	718 (22,0)	2540 (78,0)		
Alugada	110 (19,3)	460 (80,7)	0,9 (0,7-1,1)	0,280
Classe socioeconômica				
A2/ B1	23 (14,9)	131 (85,1)		
B2	132 (18,2)	592 (81,8)	1,2 (0,7-1,9)	0,472
C1	311 (21,1)	1164 (78,9)	1,5 (0,9-2,4)	0,090
C2/D/E	363 (24,6)	1112 (75,4)	2,1 (1,3-3,2)	0,002

* A2/ B1= classe que recebe mais de 10 salários mínimos (Salário mínimo em R\$788,00).

B2 = classe que recebe entre 6 a 10 salários mínimos.

C1 = classe que recebe entre 4 a 6 salários mínimos.

C2/D/E = classe que recebe menos de 4 salários mínimos.

Fonte: Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa (Abep)

Tabela 7: Análise univariada das variáveis relacionadas às características do domicílio e peridomicílio da população total do estudo, Governador Valadares, MG, 2014-2015.

Variável	DPP-ELISA		Univariada OR (95% IC)	P
	Positivo (%)	Negativo (%)		
Já teve cão com LVC				
Sim	348 (27,3)	927 (72,7)		
Não	483 (18,9)	2077 (81,1)	1,8 (1,5-2,1)	0,000
Casa já foi borrifada				
Sim	338 (21,9)	1758 (78,1)		
Não	493 (21,4)	1024 (78,6)	0,9 (0,8-1,1)	0,460
Tipo de residência				
Casa independente	683 (21,9)	2438 (78,1)		
Comércio	13 (29,5)	31 (71,5)	1,5 (0,7-3,1)	0,320
Casa geminada/ Núcleo Familiar	127 (20,8)	485 (79,2)	0,9 (0,8-1,2)	0,561
Apartamento	5 (9,8)	46 (90,2)	0,6 (0,3-1,3)	0,183
Há quintal				
Sim	671 (24,5)	2068 (75,5)		
Não	170 (14,6)	935 (85,4)	2,1 (1,7-2,6)	0,000
Característica do quintal				
Cimento	214 (20,1)	853 (79,9)		
Terra/ Barranco	225 (31,7)	486 (68,3)	2,2 (1,8-2,9)	0,000
Cimento e terra	232 (24,1)	730 (75,9)	1,5 (1,2-1,8)	0,001
Canteiro de plantas				
Sim	252 (26,0)	718 (74,0)		
Não	578 (20,2)	2286 (79,8)	1,5 (1,2-1,8)	0,000
Bananeiras				
Sim	137 (31,7)	295 (68,2)		
Não	694 (20,4)	2709 (79,6)	2,1 (1,7-2,7)	0,000
Lixo exposto				
Sim	248 (30,4)	568 (69,6)		
Não	583 (19,3)	2436 (80,7)	2,0 (1,7-2,5)	0,000
Entulho				
Sim	281 (28,2)	715 (71,8)		
Não	550 (19,4)	2289 (80,6)	2,0 (1,6-2,3)	0,000
Monte de folhas				
Sim	284 (29,2)	689 (70,8)		
Não	547 (19,1)	2315 (80,9)	2,0 (1,7-2,5)	0,000
Árvores				
Sim	473 (27,2)	1265 (72,8)		
Não	358 (17,1)	1739 (82,9)	2,0 (1,7-2,4)	0,000
Esterco				
Sim	77 (30,6)	175 (68,4)		
Não	754 (21,0)	2829 (79,0)	2,4 (1,8-3,2)	0,000
Galinhas				
Sim	161 (29,0)	394 (71,0)		
Não	670 (20,4)	2610 (79,6)	1,9 (1,6-2,4)	0,000
Cavalos				
Sim	6 (42,9)	8 (57,1)		
Não	825 (21,6)	2996 (78,4)	1,0 (0,6-1,7)	0,891
Gatos				
Sim	147 (28,0)	371 (72,0)		
Não	687 (20,7)	2633 (79,3)	1,2 (1,1-1,2)	0,000
Passarinhos				
Sim	160 (20,6)	617 (79,4)		
Não	671 (21,9)	2387 (78,1)	1,0 (0,8-1,2)	0,969
Outros animais				
Sim	36 (22,4)	125 (77,6)		
Não	794 (21,7)	2870 (78,3)	1,0 (0,7-1,5)	0,846

Tabela 8: Análise univariada das variáveis relacionadas a visualização do vetor por todos proprietários do estudo, Governador Valadares, MG, 2014-2015.

Variável	DPP-ELISA		Univariada OR (95% IC)	P
	Positivo (%)	Negativo (%)		
Já viu vetor				
Sim	25 (19,7)	102 (80,3)		
Não	806 (21,7)	2902 (78,3)	1,0 (0,6-1,5)	0,919
Dentro de casa				
Sim	3 (12,0)	22 (88,0)		
Não	828 (21,7)	2982 (78,3)	0,4 (0,1-1,5)	0,175
Galinheiro				
Sim	1 (20,0)	4 (80,0)		
Não	830 (21,7)	3000 (78,3)	0,5 (0,0-7,5)	0,652
Quintal				
Sim	13 (21,7)	47 (78,3)		
Não	818 (21,7)	2957 (78,3)	0,9 (0,5-1,8)	0,865
Curral				
Sim	1 (14,3)	6 (85,7)		
Não	830 (21,7)	2998 (78,3)	1,7 (0,4-8,0)	0,504
Outros lugares				
Sim	7 (21,2)	26 (78,8)		
Não	824 (21,7)	2978 (78,3)	1,3 (0,6-3,0)	0,488

Por outro lado, quando avaliada no âmbito das características do animal, foram qualificados 5822 cães para realizar a análise univariada, comparando os animais infectados com os não infectados, empregando a regressão logística. As variáveis utilizadas foram coletadas na entrevista e registradas na ficha do cão. Foram selecionadas inicialmente as que tiveram nível de significância ($p < 0,25$) e aquelas consideradas importantes na transmissão da LVC, neste caso, variáveis relacionadas às características intrínsecas ao cão e aos cuidados do proprietário (Tabela 9). Algumas pessoas não souberam e/ou não quiseram responder parte do questionário.

Tabela 9: Análise univariada das variáveis relacionadas às características de todos os cães do estudo, Governador Valadares, MG, 2014-2015.

Variável	DPP-ELISA		Univariada OR (95% IC)	P
	Positivo (%)	Negativo (%)		
Sexo				
Macho	649 (23,9)	2069 (76,1)		
Fêmea	633 (20,4)	2471 (79,6)	0,8 (0,7-0,9)	0,001
Porte				
Pequeno	514 (17,3)	2459 (82,7)		
Médio	532 (24,8)	1612 (75,2)	1,6 (1,4-1,8)	
Grande	236 (33,5)	469 (66,5)	2,4 (2,0-2,9)	0,000
Pelo				
Longo	233 (13,0)	1560 (87,0)		
Curto	1049 (26,0)	2980 (74,0)	2,4 (2,0-2,8)	0,000
Já usou coleira com inseticida				
Sim	57 (20,0)	230 (80,0)		
Não	1225 (22,1)	4307 (77,9)	0,9 (0,6-1,7)	0,363
Exame prévio para LVC				
Sim	520 (21,3)	1941 (78,9)		
Não	750 (22,5)	2577 (77,5)	0,9 (0,8-1,0)	0,199
Resultado do exame prévio para LVC				
Positivo	8 (47,1)	9 (52,9)		
Negativo	508 (21,0)	1916 (79,0)	3,4 (1,3-8,7)	0,009
Leva o cão ao veterinário				
Sim	157 (15,4)	862 (84,6)		
Não	1124 (23,4)	3676 (76,6)	0,6 (0,5-0,7)	0,000
Cão vacinado contra LVC				
Sim	16 (20,0)	64 (80,0)		
Não	1262 (22,1)	4456 (77,9)	0,9 (0,5-1,5)	0,657
Quando vacinou				
Este ano	5 (20,8)	19 (71,2)		
Ano passado	8 (20,5)	31 (79,5)	1,0 (0,3-3,4)	
A mais de um ano	3 (20,0)	12 (80,0)	1,0 (0,2-4,7)	0,998
Onde o cão fica				
Dentro de casa	78 (10,0)	701 (90,0)		
Quintal/canil/casinha/outros lugares	928 (27,8)	2405 (72,2)	3,4 (2,6-4,3)	
Na varanda	258 (15,7)	1391 (84,5)	1,7 (1,3-2,2)	
Na rua	18 (29,5)	43 (70,5)	3,8 (2,2-6,3)	0,000
Onde o cão dorme				
Dentro de casa	80 (10,2)	703 (89,8)		
Quintal/canil/casinha/outros lugares	913 (27,7)	2386 (72,3)	3,5 (2,7-4,4)	
Na varanda	263 (15,9)	1390 (84,1)	1,7 (1,3-2,2)	
Na rua	26 (29,9)	61 (70,1)	3,8 (2,1-6,8)	0,000
Cão foge				
Sim	405 (25,3)	1197 (74,7)		
Não	877 (20,8)	3342 (79,2)	1,3 (1,1-1,5)	0,000
Shampoo contra pulgas e carrapatos				
Sim	373 (17,9)	1706 (82,1)		
Não	908 (24,3)	2831 (75,7)	0,7 (0,6-0,8)	0,000

5.1.5 Análise multivariada e modelo final

A partir das análises por grupo de variáveis, aquelas que apresentaram nível de significância ($p < 0,05$) foram elegidas para o modelo final, sendo elas: presença anterior de cão com LVC na residência; como é o quintal da residência (cimento, terra/barranco, cimento e terra); se há presença de esterco no quintal; porte do cão (pequeno, médio ou grande); pelo do cão (curto ou longo); local onde o cão dorme (dentro de casa, quintal/canil/casinha/outros lugares, na varanda ou na rua).

O modelo final para o critério de infecção por *L. infantum* foi (i) já teve cão com LVC (OR: 1,3; IC95% 1,1-1,6); (ii) como é o quintal: terra/barranco (OR: 1,5; IC95% 1,2-1,9), cimento e terra (OR: 1,1; IC95% 0,8-1,3); (iii) presença de esterco (OR: 1,6; IC95% 1,2-2,2); (iv) porte do cão: médio (OR: 1,3; IC95% 1,1-1,6), grande (OR: 1,9; IC95% 1,5-2,5); (v) pelo do cão: curto (OR: 2,0; IC95% 1,6-2,5); (vi) onde o cão dorme: quintal/canil/casinha/outros lugares (OR: 2,8; IC95% 1,8-4,3), na varanda (OR: 1,7; IC95% 1,1-2,7), na rua (OR: 1,2; IC95% 0,4-3,5) (Tabela 10).

Tabela 10: Fatores de risco para infecção canina por *Leishmania infantum* de acordo com o modelo final, Governador Valadares, MG, 2014-2015.

Variável	Odds Relativa Bruta (IC95%)	Odds Relativa Ajustada (IC95%)
Já teve cão com LVC		
Não	1	
Sim	1,8 (1,5-2,1)	1,3 (1,1-1,6)
Característica do quintal		
Cimento	1	
Terra/ Barranco	2,2 (1,8-2,9)	1,5 (1,2-1,9)
Cimento e terra	1,5 (1,2-1,8)	1,1 (0,8-1,3)
Presença de esterco no quintal		
Não	1	
Sim	2,4 (1,8-3,2)	1,6 (1,2-2,2)
Porte do cão		
Pequeno	1	
Médio	1,6 (1,4-1,8)	1,3 (1,1-1,6)
Grande	2,4 (2,0-2,9)	1,9 (1,5-2,5)
Pelo do cão		
Longo	1	
Curto	2,4 (2,0-2,8)	2,0 (1,6-2,5)
Onde o cão dorme		
Dentro de casa	1	
Quintal/canil/casinha/outros lugares	3,5 (2,7-4,4)	2,8 (1,8-4,3)
Na varanda	1,7 (1,3-2,2)	1,7 (1,1-2,7)
Na rua	3,8 (2,1-6,8)	1,2 (0,4-3,5)

5.1.6 Resultados dos exames sorológicos do estudo transversal e formação dos grupos sem e com coleira

Das 5851 amostras de sangues coletadas para realização dos testes sorológicos (DPP e ELISA), 2054 (35,1%) foram DPP positivo e 3797 (64,9%) DPP negativo. Os animais elegíveis para o estudo foram aqueles que apresentaram DPP negativo (n=3797). Estes foram selecionados para o estudo de intervenção constituindo assim o grupo sem coleira (n=1931) e com coleira (n=1866) (Figura 7).

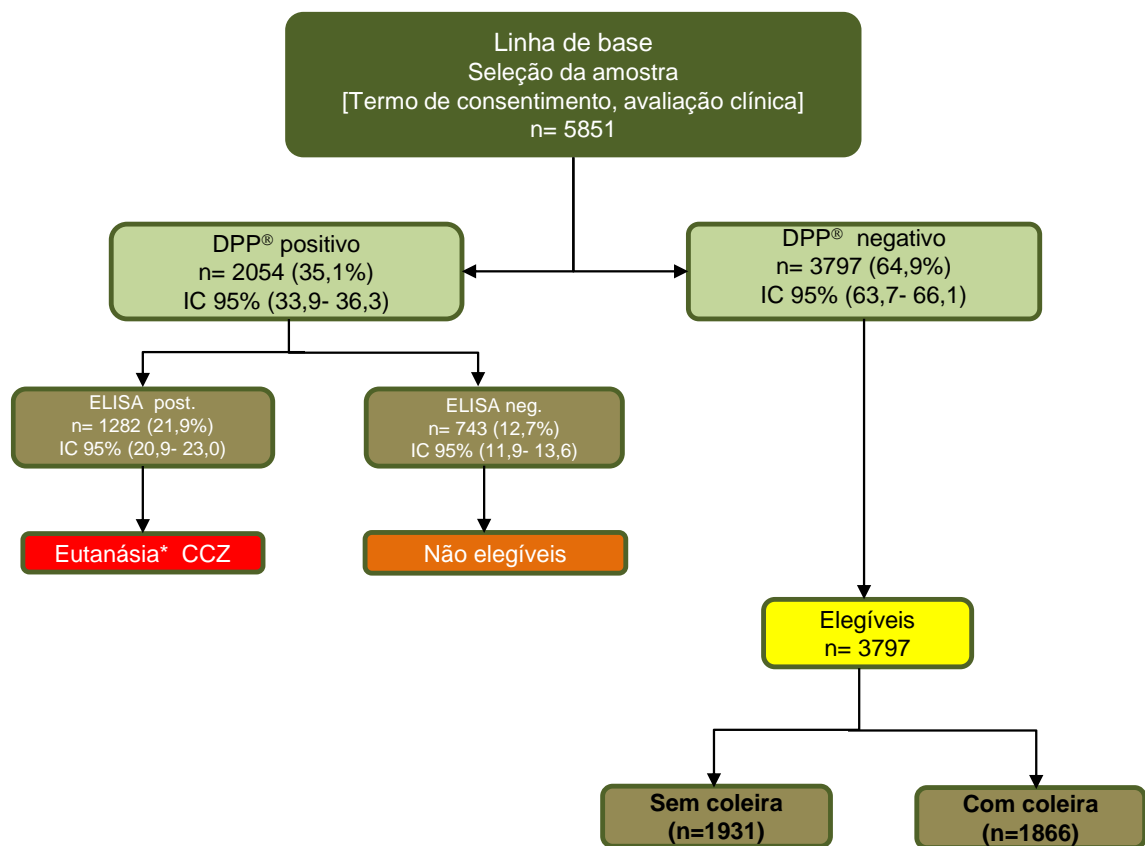


Figura 7: Linha de base do estudo transversal e formação dos grupos sem coleira e com coleira.

5.2 Estudo de intervenção

5.2.1 Animais elegíveis

5.2.1.1 Características socioeconômicas e condições de moradia dos proprietários

Após os resultados dos exames sorológicos, ocorreu a primeira intervenção onde foi realizado o encoleiramento dos cães pertencentes ao grupo coleira. Houve uma perda de 55 (1,4%) cães que seriam encoleirados. Desta forma um total de 3742 cães e 2494 propriedades foram incluídas no estudo e permitiram seguimento no estudo. Ao comparar as áreas sem e com coleira, foi observado que elas diferem em relação à escolaridade, às condições socioeconômicas, e algumas características do domicílio e peridomicílio.

Na área sem coleira foi observado que grande parte dos entrevistados possuíam o ensino médio/superior completo e maior quantidade de indivíduos com melhores condições socioeconômicas, já na área com coleira a maioria possuíam ensino fundamental completo/médio incompleto. Com relação às características do domicílio e peridomicílio, foi observado que a área sem coleira a maioria das casas que possuíam quintal, estes eram de cimento. Já na área com coleira apresentou maior número de casas que já tiveram casos anteriores de LVC, a maioria das casas que possuíam quintais, estes eram de terra/barranco (Tabela 11). Em relação ao conhecimento sobre o vetor não houve diferenças entre as áreas (Tabela 12). Em algumas variáveis, algumas pessoas não souberam e/ou não quiseram responder o questionário.

Tabela 11: Distribuição de frequências das variáveis relacionadas às características do proprietário, domicílio, peridomicílio nas áreas sem e com coleira, Governador Valadares, MG, 2014-2015.

Variável	Sem coleira (n/%)	Com coleira (n/%)	P
Escolaridade			
Analfabeto/Primário incompleto/ Primário completo/Fundamental incompleto	412 (32,3)	422 (34,7)	
Fundamental completo/ médio incompleto	371 (29,1)	478 (39,3)	
Médio completo/Superior incompleto/ Superior completo	493 (38,6)	316 (26,0)	0,000
Casa			
Própria/ Em financiamento	1025 (80,3)	1083 (89,1)	
Alugada	252 (19,7)	133 (11,0)	0,000
Classe socioeconômica			
A2/ B1	74 (5,8)	36 (3,0)	
B2	314 (24,6)	186 (15,3)	
C1	478 (37,5)	508 (41,8)	
C2/D/E	410 (31,1)	485 (39,9)	0,000
Já teve cão com LVC			
Sim	305 (23,9)	434 (35,7)	
Não	972 (76,1)	783 (64,3)	0,000
Tipo de residência			
Casa independente	1043 (81,8)	976 (80,3)	
Comércio	16 (1,3)	12 (1,0)	
Casa geminada/ Núcleo Familiar	188 (14,7)	212 (17,4)	
Apartamento	28 (2,2)	16 (1,3)	0,106
Há quintal			
Sim	834 (65,3)	838 (68,9)	
Não	443 (34,7)	379 (31,1)	0,060
Como é o quintal			
Cimento	382 (45,7)	348 (41,5)	
Terra/ Barranco	155 (18,6)	208 (24,8)	
Cimento e terra	298 (35,7)	282 (33,6)	0,008

* A2/ B1= classe que recebe mais de 10 salários mínimos (Salário mínimo em R\$788,00).

B2 = classe que recebe entre 6 a 10 salários mínimos.

C1 = classe que recebe entre 4 a 6 salários mínimos.

C2/D/E = classe que recebe menos de 4 salários mínimos.

Fonte: Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa (Abep).

Tabela 12: Distribuição de frequências das variáveis relacionadas à visualização do vetor pelo proprietário nas áreas sem e com coleira, Governador Valadares, MG, 2014-2015.

Variável	Sem coleira (n/%)	Com coleira (n/%)	P
Já viu vetor			
Sim	43 (3,4)	41 (3,4)	
Não	1234 (96,6)	1176 (96,6)	0,998
Dentro de casa			
Sim	8 (0,6)	10 (0,8)	
Não	1269 (99,4)	1207 (99,2)	0,565
Quintal			
Sim	18 (1,4)	20 (1,6)	
Não	1259 (98,6)	1197 (98,4)	0,634

5.2.2.2 Características dos cães

Dos 3742 cães elegíveis e que deram seguimento ao estudo foi observado que as características dos cães e os cuidados do proprietário são muito semelhantes entre as áreas (Tabela 13). A diferença ao comparar as áreas foi observada com relação ao porte dos cães, que na área sem coleira o número de cães de grande porte é superior e na área com coleira possui maior número de cães de médio porte. Além disso, na área sem coleira um maior número de proprietários leva seus cães ao veterinário.

Tabela 13: Características do cão e os cuidados do proprietário com seus cães nas áreas sem e com coleira, Governador Valadares, MG, 2014-2015.

Variável	Sem coleira (n/%)	Com coleira (n/%)	P
Sexo			
Macho	857 (44,4)	843 (46,5)	0,183
Fêmea	1074 (55,6)	968 (53,5)	
Porte do cão			
Pequeno	1113 (57,7)	1009 (55,7)	0,000
Médio	611 (31,6)	662 (36,6)	
Grande	207 (10,7)	140 (7,7)	
Pelo do cão			
Longo	721 (37,3)	648 (35,8)	0,323
Curto	1210 (62,7)	1163 (64,2)	
Leva o cão ao veterinário			
Sim	441 (22,9)	305 (16,8)	0,000
Não	1488 (77,1)	1506 (83,2)	
Onde o cão fica			
Dentro de casa	323 (16,7)	302 (16,7)	0,997
Quintal/canil/casinha/outros lugares	965 (50,0)	907 (50,1)	
Na varanda	618 (32,0)	580 (32,0)	
Na rua	25 (1,3)	22 (1,2)	
Onde o cão dorme			
Dentro de casa	335 (17,4)	291 (16,1)	0,219
Quintal/canil/casinha/outros lugares	960 (49,7)	936 (51,7)	
Na varanda	613 (31,8)	572 (31,6)	
Na rua	23 (1,2)	12 (0,7)	

5.3 Incidência de soroconversão após 6 e 12 meses de encoleiramento

Quando analisada por intenção de tratar (todos os cães de cada grupo, independentemente de estarem ou não com a coleira) verificou-se que dos 3742 cães elegíveis ao estudo 2795 deram seguimento no primeiro retorno (perda de 947 (25,2%) dos cães). Destes 1390 seguiram no grupo sem coleira: 1193 (85,8%) cães foram DPP negativo e 197 (14,2%) DPP positivo. Destes DPP positivos 91 foram ELISA positivo, resultando numa incidência de infecção de 6,5%. No grupo com coleira 1405 cães deram continuidade: 1263 (89,9%) cães foram DPP negativo e 142 (10,1%) DPP positivo. Dos animais DPP positivo 86 foram ELISA

positivo, e a incidência levando em conta os testes em série foi de 6,1%. No segundo retorno dos 2795 cães, 2150 deram continuidade ao estudo resultando uma perda de 645 (23,1%) animais. Destes, 1024 foram do grupo sem coleira, dos quais 868 (84,8%) cães DPP negativo e 156 (15,2%) DPP positivo. O resultado positivo do DPP foi confirmado em 51 cães através do ELISA e a incidência final foi de 5,0%. Já no grupo com coleira 1126 cães deram continuidade: 984 (87,4%) cães foram DPP negativo e 142 (12,6%) DPP positivo. Após a realização do teste de ELISA 36 mantiveram positivos e a incidência final foi de 3,2% (Figura 8).

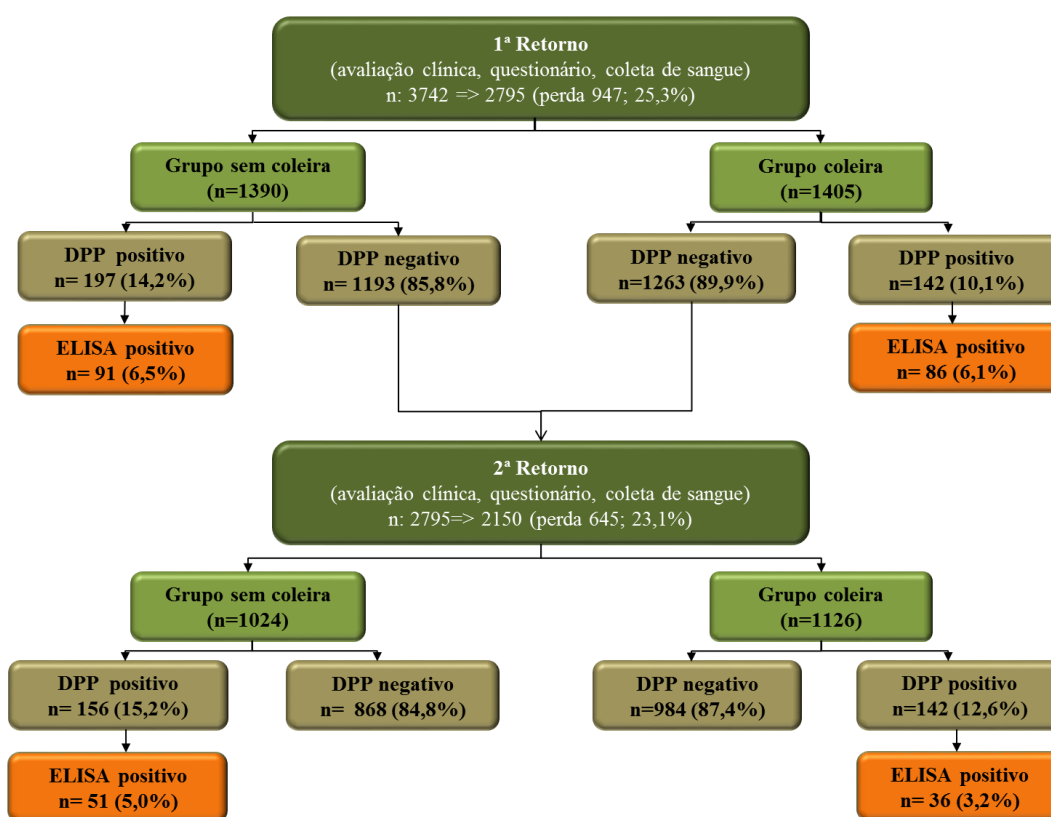


Figura 8: Resultados sorológicos após 6 e 12 meses ao encoleiramento por intenção de tratar.

Quando analisada por protocolo (apenas os cães que permaneceram durante todo o estudo com a coleira) dos 3742 cães elegíveis ao estudo 2303 deram seguimento no primeiro retorno, com uma perda de 1439 (38,5%) dos cães. O grupo sem coleira não sofre alteração em relação a análise anterior. Já o grupo com coleira 913 cães utilizaram a coleira durante os 6 primeiros meses, destes: 841 (92,1%) cães foram DPP negativo e 72 (7,9%) DPP positivo. Foi confirmada a sorologia positiva pelo ELISA em 35 cães e a incidência de infecção foi de 3,8%. No segundo retorno, no grupo com coleira 758 cães utilizaram a coleira por 12 meses: 667 (88,0%) cães foram DPP negativo e 91 (12,0%) DPP positivo. Após a realização do ELISA 11

cães mantiveram a sorologia positiva e a incidência final de infecção foi de 2,9% de infecção (Figura 9).

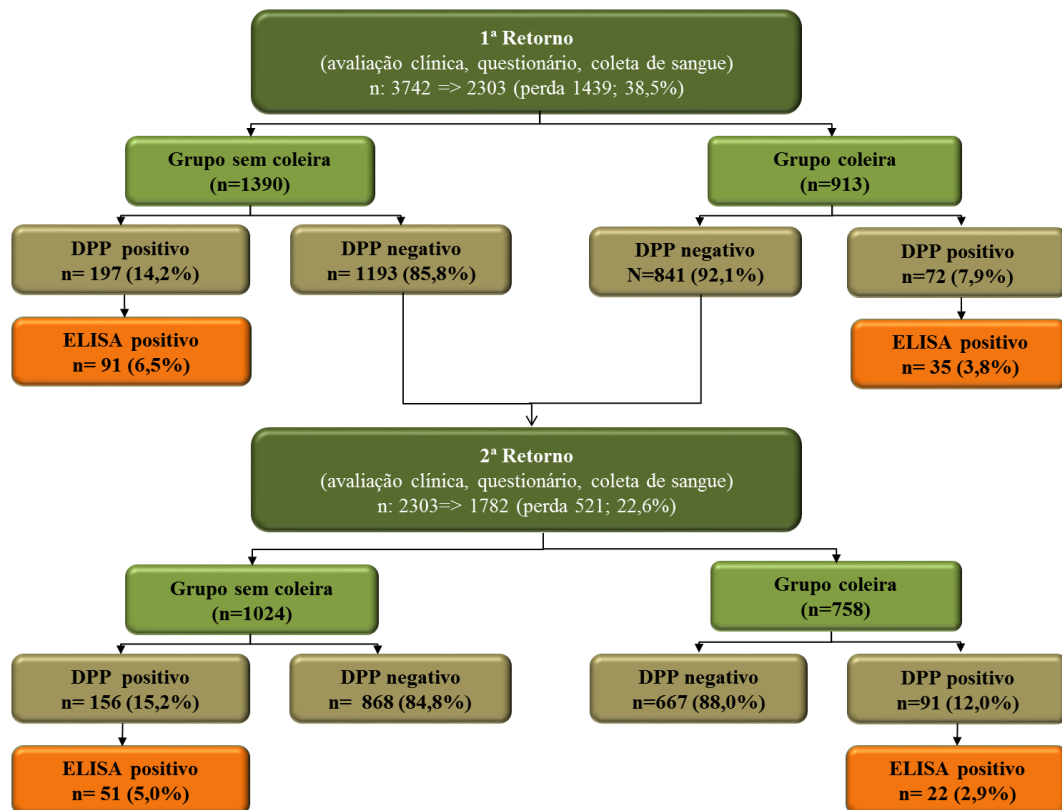


Figura 9: Resultados sorológicos após 6 e 12 meses ao encoleiramento por protocolo.

5.3.1 Incidência pessoa/tempo e efetividade

Quando a análise foi realizada por intenção de tratar, foi observado após 6 meses de encoleiramento na segunda intervenção, uma incidência no grupo sem coleira de 7,9/1000 cães/mês e no grupo coleira de 7,5/1000 cães/mês. Na terceira intervenção, após 12 meses do início do estudo, a incidência no grupo sem coleira foi de 13,2/1000 cães/mês e no grupo coleira de 5,5/1000 cães/mês. A efetividade da coleira nos cães foi de 5,1% após 6 meses encoleirados e de 50,8% após 12 meses (Tabela 14).

Tabela 14: Efetividade por intenção de tratar levando em conta a incidência cão/tempo em meses.

Intervalo	Grupo				Efetividade (%)
	Sem Coleira		Coleira		
	Eventos	Incidência (IC95%)	Eventos	Incidência (IC95%)	
1º retorno	91	7,9 (6,4-9,7)	86	7,5 (6,1-9,4)	5,1
2º retorno	51	13,2 (10,0-17,3)	36	6,5 (4,7-9,0)	50,8

Já na análise por protocolo, observou-se na segunda intervenção uma incidência de 7,9/1000 cães/mês no grupo sem coleira e de 5,1/1000 cães/mês no grupo com coleira. Na terceira intervenção a incidência no grupo sem coleira foi de 13,2/1000 cães/mês e no grupo coleira manteve 5,1/1000 cães/mês. A efetividade da coleira nos cães foi de 35,4% após 6 meses encoleirados e de 61,4% após 12 meses (Tabela 15).

Tabela 15: Efetividade por protocolo levando em conta a incidência cão/tempo em meses.

Intervalo	Grupo				Efetividade (%)
	Sem Coleira		Coleira		
	Eventos	Incidência (IC95%)	Eventos	Incidência (IC95%)	
1º retorno	91	7,9 (6,4-9,7)	35	5,1 (3,6-7,1)	35,4
2º retorno	51	13,2 (10,0-17,3)	16	5,1 (3,1-8,3)	61,4

Através dos gráficos de sobrevida e do teste de *log rank* foi observado que a diferença entre as incidências no grupo coleira e sem coleira são significativas, tanto por intenção de tratar quanto por protocolo (Figura 10).

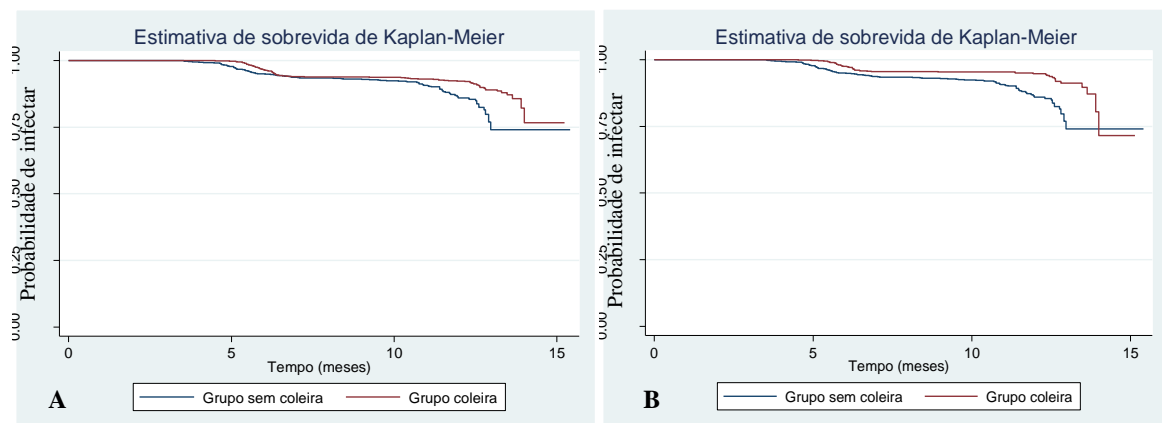


Figura 10: Estimativa de sobrevida de Kaplan-Meier por intenção de tratar (A) e por protocolo (B).

5.3.2 Análise da efetividade da coleira ajustada pelas variáveis avaliadas

No intuito de analisar a efetividade da coleira ajustando esta informação pelas características do cão, do domicílio, e condições socioeconômicas do proprietário foi inicialmente realizada uma análise univariada, empregando o modelo de Cox em 2494 propriedades e 3742 cães que deram seguimento ao estudo. As variáveis utilizadas foram coletadas na entrevista e registradas na ficha do proprietário do animal e na ficha do cão. Foram selecionadas inicialmente as que tiveram nível de significância ($p < 0,25$) e aquelas consideradas importantes na transmissão da LVC (Tabelas 16, 17, 18 e 19). Foram também realizadas duas análises, por intenção de tratar e por protocolo. Em algumas variáveis algumas pessoas não souberam e/ou não quiseram responder parte do questionário.

Tabela 16: Análise univariada das variáveis relacionadas às características domicílio e peridomicílio da população elegível ao seguimento do estudo utilizando modelo de cox, Governador Valadares, MG, 2014-2015.

Variável	HR (95% IC) Intenção de tratar	P	HR (95% IC) Protocolo	P
Já teve cão com LVC				
Não				
Sim	1,4 (1,1-1,8)	0,005	1,4 (1,0-1,8)	0,033
Casa já foi borrifada				
Não				
Sim	0,8 (0,6-1,0)	0,051	0,9 (0,7-1,2)	0,578
Há quintal				
Não				
Sim	2,2 (1,6-3,0)	0,000	2,1 (1,5-3,0)	0,000
Característica do quintal				
Cimento				
Terra/ Barranco	1,7 (1,2-2,5)	0,005	2,1 (1,4-3,1)	0,001
Cimento e terra	1,8 (1,3-2,5)	0,000	2,0 (1,4-3,0)	0,000
Canteiro de plantas				
Não				
Sim	1,3 (0,9-1,7)	0,055	1,2 (0,8-1,7)	0,222
Bananeiras				
Não				
Sim	1,7 (1,2-2,3)	0,002	1,6 (1,1-2,4)	0,014
Lixo exposto				
Não				
Sim	1,6 (1,2-2,2)	0,001	1,7 (1,2-2,2)	0,003
Entulho				
Não				
Sim	1,5 (1,2-1,9)	0,002	1,4 (1,0-1,9)	0,038
Monte de folhas				
Não				
Sim	1,7 (1,3-2,2)	0,000	1,6 (1,1-2,1)	0,006
Árvores				
Não				
Sim	1,9 (1,5-2,4)	0,000	1,9 (1,4-2,5)	0,000
Esterco				
Não				
Sim	1,3 (0,8-3,0)	0,295	1,2 (0,7-2,1)	0,462
Galinhas				
Não				
Sim	1,4 (1,0-1,9)	0,032	1,3 (0,9-1,9)	0,120
Cavalos				
Não				
Sim	3,2 (1,0-9,9)	0,049	3,3 (1,1-10,4)	0,039
Gatos				
Não				
Sim	1,5 (1,1-2,0)	0,012	1,5 (1,1-2,2)	0,021
Passarinhos				
Não				
Sim	0,9 (0,7-1,2)	0,461	0,9 (0,6-1,2)	0,470
Outros animais				
Não				
Sim	1,2 (0,8-2,1)	0,333	1,7 (0,9-2,9)	0,079

Tabela 17: Análise univariada das variáveis relacionadas a visualização do vetor pela população elegível ao seguimento do estudo utilizando modelo de cox, Governador Valadares, MG, 2014-2015.

Variável	HR (95% IC) Intenção de Tratar	P	HR (95% IC) Protocolo	P
Já viu vetor				
Não				
Sim	1,6 (1,0-2,7)	0,043	1,8 (1,0-3,0)	0,043
Dentro de casa				
Não				
Sim	0,9 (0,2-3,6)	0,923	0,7 (0,1-5,2)	0,750
Quintal				
Não				
Sim	1,4 (0,7-3,1)	0,339	1,7 (0,7-4,1)	0,252
Curral				
Não				
Sim	2,6 (0,8-8,1)	0,106	2,4 (0,8-7,6)	0,137
Outros lugares				
Não				
Sim	1,9 (0,8-4,3)	0,122	2,0 (0,8-4,8)	0,134

Tabela 18: Análise univariada das variáveis relacionadas a escolaridades e condições socioeconômicas da população elegível ao seguimento do estudo utilizando modelo de cox, Governador Valadares, MG, 2014-2015.

Variável	HR (95% IC) Intenção de tratar	P	HR (95% IC) Protocolo	P
Escolaridade				
Analfabeto/Primário incompleto/Primário completo/Fundamental incompleto				
Fundamental completo/Médio incompleto	0,7 (0,5-0,9)	0,011	0,5 (0,5-0,8)	0,001
Médio completo/Superior incompleto/Superior completo	0,8 (0,6-1,1)	0,107	0,8 (0,5-1,1)	0,104
Casa				
Própria/ Em financiamento				
Alugada	0,7 (0,5-1,1)	0,117	0,6 (0,4-1,1)	0,103
Classe socioeconômica				
A2/ B1				
B2	0,9 (0,4-1,9)	0,806	1,1 (0,5-2,7)	0,828
C1	1,3 (0,7-2,6)	0,408	1,6 (0,7-3,7)	0,257
C2/D/E	1,7 (0,9-3,4)	0,113	1,9 (0,8-4,4)	0,114

* A2/ B1= classe que recebe mais de 10 salários mínimos (Salário mínimo em R\$788,00).

B2 = classe que recebe entre 6 a 10 salários mínimos.

C1 = classe que recebe entre 4 a 6 salários mínimos.

C2/D/E = classe que recebe menos de 4 salários mínimos.

Fonte: Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa (Abep).

Tabela 19: Análise univariada das variáveis relacionadas as características dos cães elegíveis ao seguimento do estudo utilizando modelo de cox, Governador Valadares, MG, 2014-2015.

Variável	HR (95% IC) Intenção de tratar	P	HR (95% IC) Protocolo	P
Sexo				
Macho				
Fêmea	0,8 (0,6-1,0)	0,105	0,8 (0,6-1,0)	0,098
Porte				
Pequeno				
Médio	1,6 (1,2-2,0)	0,000	1,5 (1,0-2,0)	0,014
Grande	1,5 (1,0-2,3)	0,049	1,3 (0,8-2,1)	0,304
Pelo				
Longo				
Curto	1,6 (1,3-2,2)	0,000	1,6 (1,2-2,2)	0,004
Já usou coleira contra o flebotomíneo				
Não				
Sim	0,5 (0,2-1,0)	0,037	0,5 (0,2-1,1)	0,081
Exame prévio para LVC				
Não				
Sim	0,8 (0,7-1,1)	0,145	0,9 (0,7-1,2)	0,371
Leva o cão ao veterinário				
Não				
Sim	0,5 (0,3-0,7)	0,000	0,5 (0,3-0,8)	0,002
Cão vacinado contra LVC				
Não				
Sim	0,7 (0,2-2,3)	0,610	0,6 (0,2-2,5)	0,510
Onde o cão fica				
Dentro de casa				
Quintal/canil/casinha/outros lugares	4,8 (2,9-8,0)	0,000	5,6 (3,0-10,7)	0,000
Na varanda	2,2 (1,3-3,9)	0,004	2,5 (1,2-4,9)	0,010
Onde o cão dorme				
Dentro de casa				
Quintal/canil/casinha/outros lugares	4,4 (2,7-7,2)	0,000	4,7 (2,6-8,4)	0,000
Na varanda	2,0 (1,2-3,5)	0,011	2,1 (1,1-4,0)	0,020
Cão foge				
Não				
Sim	1,7 (1,3-2,2)	0,000	1,6 (1,1-2,1)	0,005
Shampoo contra pulgas e carrapatos				
Não				
Sim	0,5 (0,4-0,6)	0,000	0,5 (0,4-0,7)	0,000

A partir das análises por grupo de variáveis aquelas que apresentaram nível de significância ($p < 0,05$) foram selecionadas para o modelo final sendo elas: presença de folhas no quintal e outros animais; local onde o cão fica a maior parte do tempo (dentro de casa, quintal/canil/casinha/outros lugares, na varanda); se o cão foge para rua, se usa shampoo contra pulgas e carrapatos e a presença da coleira.

No modelo final, para avaliação da efetividade da coleira impregnada com deltametrina na infecção por *L. infantum*, quando analisado por intenção de tratar, mostrou uma efetividade

de 50% quando ajustado pela presença de folhas no quintal (HR: 1,4; IC95% 1,1-1,9); onde o cão fica: quintal/canil/casinha/outros lugares (HR: 3,6; IC95% 2,1-6,1); se o cão foge para rua (HR: 1,4; IC95% 1,1-1,8) e se o cão usa shampoo contra pulgas e carrapatos (HR: 0,6; IC95% 0,4-0,8). Já a efetividade por protocolo foi de 60% ajustado pela presença de folhas no quintal (HR: 1,5; IC95% 1,1-2,1); presença de outros animais (HR: 2,1; IC95% 1,2-3,6); moradores com escolaridade do ensino médio ao superior completo (HR: 0,9; IC95% 0,7-1,3); onde o cão fica: quintal/canil/casinha/outros lugares (HR: 4,6; IC95% 2,4-8,9) e se o cão usa shampoo contra pulgas e carrapatos (HR: 0,6; IC95% 0,4-0,8) (Tabela 20).

Tabela 20: Avaliação de efetividade da coleira impregnada com deltametrina na infecção canina por *Leishmania infantum* de acordo com o modelo de cox, Governador Valadares, MG, 2014-2015.

Variável	Intenção de tratar (IC95%)	Protocolo (IC95%)
Folhas no quintal	1,4 (1,1-1,9)	1,5 (1,1-2,1)
Outros animais	-	2,1 (1,2-3,6)
Escolaridade		
Analfabeto/Primário incompleto/Primário completo/Fundamental incompleto	-	1
Fundamental completo/Médio incompleto	-	0,6 (0,4-0,8)
Médio completo/Superior incompleto/Superior completo	-	0,9 (0,7-1,3)
Onde o cão fica		
Dentro de casa	1	1
Quintal/canil/casinha/outros lugares	3,6 (2,1-6,1)	4,6 (2,4-8,9)
Na varanda	2,0 (1,1-3,4)	2,3 (1,2-4,6)
Cão foge	1,4 (1,1-1,8)	-
Shampoo contra pulgas e carrapatos	0,6 (0,4-0,8)	0,6 (0,4-0,8)
Uso de coleira	0,5 (0,4-0,7)	0,4 (0,3-0,5)

6.1 Estudo transversal

Os resultados obtidos no estudo transversal, mostram como a LV reemergiu em Governador Valadares com um elevado número de casos caninos com mais de um quinto dos cães examinados soropositivos. Através dos testes sorológicos adotados pelo Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral observamos uma elevada prevalência de infecção (21,9%) detectada pelos testes sorológicos em série (DPP e ELISA) e se considerarmos apenas o teste de triagem (DPP) a prevalência chega a 35,1%. Conhecer os fatores de risco associados com a infecção canina pode contribuir para que os proprietários dos animais adotem medidas que minimizem o risco de infecção em seus animais e para si mesmos.

Os fatores de risco associados à infecção detectados no presente estudo foram: (i) já ter ocorrido caso de LVC na residência; (ii) tipo de quintal; (iii) porte e pelo do cão e (iv) onde o animal dorme e fica a maior parte do tempo. A maioria destes fatores pode gerar medidas que reduzam o risco de infecção, como: evitar tosar o pelo dos cães, deixar o animal dentro de casa ou em canil telado nos horários de maior atividade do vetor, manter o quintal com menos matéria orgânica e adotar medidas profiláticas em residências que já houve casos caninos. O único fator de risco encontrado no atual trabalho que não há como ser minimizado pelo proprietário é o porte do animal.

A realização de um inquérito sorológico canino permite identificar não só a prevalência de cães infectados por *L. infantum*, mas também as áreas com maior risco de infecção humana (Oliveira *et al.*, 2010), direcionando as políticas públicas para o enfrentamento da expansão da doença. Em outro trabalho realizado em Governador Valadares avaliando 16.529 cães, também foi observado elevada prevalência de infecção de LVC (30,2%) através dos métodos de diagnósticos sorológicos ELISA e RIFI (Barata *et al.*, 2013). Essa elevada prevalência é um indicador útil para monitorar a força de transmissão do parasito para os seres humanos, ressaltando a importância de priorizar as intervenções nessas áreas (Belo *et al.*, 2013).

Observamos ainda que casas que possuem o quintal de terra ou barranco e com presença de esterco, apresentam maior risco de terem seu cão infectado por *L. infantum* quando comparado aos quintais cimentados. Estes achados, corroboram com alguns estudos nos quais foram demonstrados que as condições dos quintais influenciaram no aumento da infecção por LV (de Almeida *et al.*, 2012; Coura-Vital *et al.*, 2013a; Leça-Junior *et al.*, 2015; Fernandes *et al.*, 2016; Ursine *et al.*, 2016), provavelmente devido à presença de matéria orgânica nestes ambientes necessária para o flebotomíneo completar o seu ciclo de vida, o que pode contribuir fortemente para a sua proliferação. Tal fato comprova a necessidade de maior esclarecimento e

colaboração da população quanto à manutenção da limpeza no quintal (livre de esterco, entulhos, matéria orgânica, entre outros) evitando um ambiente propício à propagação do vetor.

Sherlock (1996) observou que piores condições sanitárias, baixo nível socioeconômico e a presença de grande número de animais domésticos estão associados ao aumento das taxas de infecção canina e alta densidade de flebotomíneos, tanto no intradomicílio como no peridomicílio. Em nosso trabalho, foi constatado que casas que já tiveram anteriormente caso (s) de LVC apresentam um maior risco de infecção para o cão atual. Outros estudos também evidenciaram que residências com histórico prévio de casos caninos são mais propensas ao surgimento da LV canina e LV humana (Borges *et al.*, 2009; da Silva *et al.*, 2012; Coura-Vital *et al.*, 2013b). Este achado deve-se ao fato desta residência, provavelmente, possuir um ambiente promissor ao desenvolvimento e manutenção do vetor, tornando o local favorável à ocorrência/surgimento de novos casos. Estes achados reforçam e destacam a necessidade de manter a vigilância nessas áreas com elevado número de casos caninos. Desta forma, a substituição de cães infectados por outros suscetíveis, contribui para manter o ciclo de transmissão de *L. infantum* com novos cães se infectando (Andrade *et al.*, 2007). Assim, uma possibilidade de ação do proprietário é que utilize medidas profiláticas como uso de coleiras e vacinação contra LVC, além de borrifações com inseticidas periódicas nos ambientes do peridomicílio onde o animal prefere ficar e/ou dormir para proteger seu novo animal de adquirir a doença.

Cães de grande porte foram associados ao maior risco de infecção por *L. infantum*, como demonstrado em outro estudo (Martín-Sánchez *et al.*, 2009). Apesar do flebotomíneo ser atraído para seus hospedeiros pelo dióxido de carbono e odores exalados (Killick-Kendrick, 1999), a atração pode ser influenciada pela extensão da massa corporal relativa do animal (Quinnell *et al.*, 1992). Estes fatores de atração podem explicar as taxas de infecção serem maiores conforme o porte dos animais. Além disso, animais de grande porte, geralmente, ficam a maior parte do tempo no quintal, estando mais expostos ao vetor.

Foi observado também que o tamanho do pelo é um fator de risco para infecção por *L. infantum*. Os animais com pelo curto são mais vulneráveis às picadas do vetor, pois o pelo longo atua como uma barreira mecânica, conferindo assim, proteção ao animal. Trabalhos anteriores já haviam noticiado resultados semelhantes (Moreira *et al.*, 2003; França-Silva *et al.*, 2003; Coura-Vital *et al.*, 2011; Barata *et al.*, 2013; Lopes *et al.*, 2014; Alves, 2016). Contudo, vale aqui ressaltar sobre a importância da proteção de seus cães, pois mesmo animais de pelo longo têm áreas de predileção de picada do vetor, como focinho, orelhas, cauda e ao redor dos olhos.

Uma medida que pode ser adotada pelo proprietário para tentar reduzir o risco de infecção é evitar cortar o pelo do cão muito curto em épocas do ano de maior densidade vetorial.

Outro determinante de risco à infecção por *L. infantum* encontrado neste estudo foi relacionado ao local onde os cães dormem, apontando que este risco é maior no quintal/canil/casinha/outros lugares externos da casa quando comparado ao cão que dorme dentro de casa. Já foi descrito que cães que passam a noite em quintal estão associados a um maior risco de apresentar LVC (Martin-Sanchez *et al.*, 2009; Coura-Vital *et al.*, 2013a; Nackers *et al.*, 2015; López *et al.*, 2016). Também foi observado que o risco de se infectar no quintal da residência é semelhante ao de se infectar na rua ou na mata, demonstrando que o cão é infectado sem sair dos quintais das residências (Moreira *et al.*, 2003). Possivelmente, estes animais estão em maior risco, devido a maior densidade vetorial no exterior da residência, uma vez que o ambiente ao ar livre permite maior contato do vetor com suas fontes sanguíneas. Sendo assim, uma possível medida de prevenção seria manter o cão dentro da residência ou em canis telados nos horários de maior atividade vetorial, que é crepuscular e noturna.

O presente estudo mostra como a LV re-emergiu fortemente após a interrupção das campanhas de controle em uma área que já foi considerada controlada e livre da doença (Mayrink *et al.*, 1979; Magalhães *et al.*, 1980). A elevada soroprevalência canina aponta a importante participação destes animais no processo de re-emergência e urbanização da LV. Neste contexto, a educação em saúde com a conscientização da população sobre os fatores de risco associados à infecção canina é de suma importância, uma vez que podem reduzir as taxas de infecção canina e conseqüentemente humana.

6.2 Estudo de intervenção

Um dos grandes desafios também encontrados no PVC-LV refere-se ao vetor, tornando sempre necessário estudos e avanços no seu controle, principalmente através de medidas de estratégia integradas, tais como: saneamento ambiental, tratamento químico direcionado ao reservatório e/ou aos abrigos do flebotomíneo e/ou às principais fontes de alimento. E neste contexto, coleiras impregnadas com deltametrina são importantes, pois além de reduzir substancialmente a quantidade de inseticida aplicada no meio ambiente, tentam evitar a infecção do reservatório. Diante disso, o uso de coleira impregnada com deltametrina em cães, surge como uma alternativa complementar para as medidas de controle da LV.

Neste estudo, um dos pioneiros no teste em larga escala do uso da coleira impregnada com deltametrina 4% contra a LVC em uma área de elevada endemicidade, observamos que o seu uso teve um papel altamente importante na redução da incidência da doença em cães, principalmente quando a adesão ao uso da coleira é mantida. A incidência de infecção por *L. infantum* após 12 meses de uso da coleira foi de 5,5/1000 cães/mês (intenção de tratar) e 5,1/1000 cães/mês (por protocolo) em comparação ao grupo sem coleira, no qual a incidência foi de 13,2/1000 cães/mês. Contudo, vale ressaltar que em ambas as áreas são realizadas medidas de controle recomendadas pelo PVC-LV (inquérito sorológico, recolhimento dos cães soropositivos, monitoramento de flebotômíneos, borrifação nas residências, educação em saúde), mostrando desta forma, que o uso da coleira seria uma interessante ferramenta de controle complementar ao programa, apontando que seu uso contínuo pelos cães auxilia na redução de novos casos da LVC.

No Irã foi realizado um estudo avaliando a intervenção da coleira em 18 aldeias (nove controle e nove intervenção), consideradas áreas endêmicas de LV (Mazloumi-Gavvani *et al.*, 2002). Após 1 ano foi observado que a taxa de soroconversão em cães nas aldeias de intervenção foi significativamente reduzida e que a utilização da coleira impregnada com deltametrina em cães, também pode reduzir o risco de infecções por *L. infantum* em crianças. A taxa de soroconversão em crianças foi de 1,49% nas aldeias de intervenção e 2,41% nas aldeias controle. Outros estudos também apresentaram resultados semelhantes, demonstrando a redução da incidência da infecção canina, como o de Ferroglio *et al.* (2008) na Itália; Aoun *et al.* (2008) na Tunísia; Alves (2016) em Montes Claros, Brasil e Davoust *et al.* (2013) no Sul da França. Em outros trabalhos, os resultados alcançados corroboraram tanto na redução da incidência da infecção canina quanto humana, como o de Parvizi *et al.* (2008) no Irã e Camargo-Neves (2004) no Brasil. Já em outra pesquisa realizada no Brasil, os autores verificaram que a incidência da LVC foi consideravelmente menor, mas não houve diferença significativa em relação ao grupo controle (Reithinger *et al.*, 2004). Contudo, tal estudo avaliou uma pequena quantidade de cães e sem fazer troca da coleira.

Em um estudo utilizando modelos matemáticos (Sevá *et al.*, 2016) que simularam as populações caninas, humanas e de vetores, em função do tempo, foi observado que o efeito do uso da coleira foi mais intenso do que a estratégia de eutanásia e vacinação. A proporção de cães e humanos assintomáticos antes da intervenção foi de 25% e 4,81%; e estas reduziram para 1,5% e 0,4%, respectivamente, com o emprego da coleira com uma taxa de cobertura de 90%. Quando foi inserido a eutanásia no modelo, removendo 90% dos cães soropositivos, esses

valores diminuiram para 2,5% e 0,6%, respectivamente. Diante destes fatos os autores sugerem que a implementação da coleira no programa de controle, com a eutanásia dos cães soropositivos aumentam a proteção contra a LV.

Ao analisar a efetividade da coleira após seis meses de encoleiramento, foi observada uma pequena redução na incidência de infecção no grupo coleira e sem coleira, com uma efetividade de 5,1% quando analisada por intenção de tratar e de 35,4% por protocolo. Estas baixas efetividades, após seis meses, podem ter ocorrido devido à inclusão de animais infectados no estudo, uma vez que um resultado negativo no teste de triagem (DPP) permitiu a inclusão do animal no trabalho. Estes animais falso-negativos possivelmente encontravam-se na janela imunológica, apresentando baixos títulos de anticorpos, dificultando sua detecção pelos métodos sorológicos atualmente empregados. Um cão infectado demora aproximadamente quatro meses para aumentar seus títulos de anticorpos, possibilitando testes sorológicos negativos neste período pós-infecção (Quinnell *et al.*, 2001). Sendo assim, após a primeira troca da coleira, foram removidos a maioria destes animais que entraram no estudo já infectados e verificamos que após a segunda troca (12 meses após o início do estudo) a efetividade já melhorou. Após um ano de encoleiramento a efetividade foi de 50,8% quando analisada por intenção de tratar e de 61,4% por protocolo. Possivelmente, se fosse realizada uma nova troca de coleira e o seguimento por mais seis meses, a efetividade melhoraria ainda mais. É importante ressaltar que o uso contínuo e regular da coleira, observado na análise por protocolo, aumenta consideravelmente a efetividade da coleira e que seu uso como uma medida de controle complementar, na prevenção e combate contra a LV pode ocasionar uma redução nas taxas de incidência de infecção canina.

Em um estudo longitudinal realizado na Itália, com duração de 2 anos, em um canil aberto, localizado em uma área altamente endêmica para LV, foi também avaliada a proteção da coleira. Os exames sorológicos após o uso da coleira na primeira estação de transmissão mostraram que 11,4% dos cães com coleira e 41,2% dos controles soroconverteram, conferindo 72,3% de proteção. Já no ano seguinte, 22,6% dos cães com coleira soroconverteram comparados com 41,2% no grupo controle, conferindo uma proteção de 45,1%. Os autores sugerem que essa redução na proteção provavelmente foi devido à grande perda (35%) da coleira e perda de seguimento (50%). Ao final do estudo a taxa cumulativa de proteção foi de 50,8%. Os autores sugeriram que o uso da coleira em cães pode influenciar até no curso clínico da infecção por *L. infantum*, visto que, os cães não encoleirados apresentaram sinais exacerbados de leishmaniose, além de uma progressão mais rápida da doença. Esse tipo de

proteção se daria pela redução nos estímulos antigênicos e da resposta imune do animal, em consequência do menor número de picadas dos flebotomíneos (Foglia Manzillo *et al.*, 2006). Estes achados reforçam nossos resultados, demonstrando que o uso contínuo da coleira melhora consideravelmente a proteção dos cães contra a infecção por *L. infantum*.

O presente estudo foi um dos primeiros a testar a coleira impregnada com deltametrina 4% em uma larga população de cães. Contudo, uma de suas limitações foi a escolha das áreas para a comparação. Apesar de ambos os setores apresentarem características ambientais semelhantes, os setores A e H que constituíram a área com coleira, possuem um relevo com mais morros e barrancos, uma população com classe socioeconômica mais baixa e uma menor porcentagem de indivíduos com elevado nível de escolaridade, quando comparado aos setores B e G que constituíram a área sem coleira. Esta diferença entre as áreas poderia ter subestimado a efetividade da coleira quando avaliada de forma isolada. Entretanto, quando estimamos a efetividade através do modelo de Cox, ajustando o cálculo pelas variáveis sociodemográficas, socioeconômicas e características dos cães, não observamos mudanças nos valores da efetividade.

Embora os níveis de receptividade dos domicílios tenham sido satisfatórios no início do estudo, houve uma perda substancial de animais ao longo da pesquisa devido às mortes dos cães, mudanças dos proprietários. Entretanto, a diferença perdida entre as categorias foi menor que 7% e possivelmente não interferiu nos resultados finais. A perda de seguimento foi maior no grupo sem coleira, em casas com pior condição socioeconômica, menor escolaridade do proprietário e casas que tiveram casos anteriores de LVC.

Em relação a efetividade da coleira impregnada com deltametrina, Camargo-Neves *et al.* (2004) concluíram em sua pesquisa realizada em Andradina, estado de São Paulo, que houve efetividade na utilização de coleiras impregnadas com deltametrina, quando associada à eliminação de cães, uma vez que a inclusão desta medida gerou a redução da prevalência de infecção canina e incidência de casos humanos. Já em um estudo realizado em Montes Claros, Minas Gerais, Brasil, também foi observado que o uso de coleiras impregnadas com inseticida associado à remoção canina, mostrou-se efetivo, uma vez que o risco de infecção por *L. infantum* foi 51% menor entre os cães residentes na área onde houve intervenção (Alves, 2016). Um estudo de coorte conduzido com cães de canis militares no sudeste da França mostrou que o risco de LVC foi reduzido em 85,2%, protegendo 93,8% dos cães da doença (Davoust *et al.*, 2013). Em um outro trabalho realizado na Itália em abrigos particulares de cães foi observado uma eficácia da coleira de 61,8% (Brianti *et al.*, 2016). Assim como os estudos previamente

citados, outros mais também identificaram efetividade no uso das coleiras (Van den Bos *et al.*, 2002; Ferroglio *et al.*, 2008; Cassini *et al.*, 2013). Entretanto, são poucos os estudos, principalmente no Brasil, avaliando a efetividade deste tipo de intervenção em larga escala.

Foi demonstrado que a eficácia das coleiras impregnadas com deltametrina, utilizadas como método para o controle da LV seja resultante de dois fatores: o primeiro associado ao seu efeito inseticida, que sugere que o número de insetos recém-infectados diminui, porque uma fração significativa deles morrem após seu contato com os cães. O segundo fator refere-se ao efeito repelente da coleira, que se manifesta como redutora do número médio de picadas por dia, reduzindo conseqüentemente a força de infecção e a taxa de flebotomíneos infectados (Séva *et al.*, 2016). Já foi demonstrando que a coleira protege os cães contra os flebotomíneos, reduzindo aproximadamente 80-96% no número de picadas através do poder repelente (Halbig *et al.*, 2000; Killick Kendrick *et al.*, 1997). David *et al.* (2001) demonstraram que o poder repelente aumenta com o tempo de utilização da coleira, sendo este de 99,3% com 4 semanas de uso e de 100% depois de 8-12 semanas e acima de 96% após 16- 22 semanas de seu uso. Estes autores ainda constataram que o efeito repelente contra o flebotomíneo ainda estava presente na coleira após 8 meses de uso. Quanto ao potencial inseticida, foi observado que a taxa de sobrevivência de flebotomíneos alimentados em cães com coleiras foi reduzida em 86% (Reithinger *et al.*, 2001). Em conjunto estes trabalhos apontam os bons efeitos de repelência e redução da sobrevivência das fêmeas de flebotomíneos causados pelo uso da coleira com inseticida, além de ilustrar o impacto que seu uso provoca na transmissão vetorial, demonstrando seu potencial quando utilizado em larga escala em áreas endêmicas para leishmaniose.

Diante do exposto, a coleira impregnada com deltametrina apresentam-se como uma boa estratégia para o controle da doença, podendo ser útil principalmente quando utilizada em larga escala, mas quando utilizada de forma isolada também confere proteção. É importante ressaltar que a utilização sistemática da coleira é essencial para melhores resultados e que as estratégias de controle atualmente adotadas devem ser mantidas.

Ressaltamos que a implementação da coleira impregnada com deltametrina pelo PVC-LV não é uma medida logisticamente fácil de ser realizada, principalmente em grandes centros onde o número de animais é muito elevado e o retorno a cada seis meses é extremamente complexo. Sendo assim, apesar dos bons resultados obtidos com o uso da coleira impregnada com deltametrina, é importante também buscar outras estratégias de controle para verificar o que pode ser implementado e contribuir mais efetivamente para a redução da expansão da doença.

7. RESUMO DOS RESULTADOS

Com base no conjunto de informações alcançados no estudo foi possível observar que:

- A taxa de prevalência da infecção canina por *L. infantum* em Governador Valadares/MG é bastante elevada;
- Os fatores de risco associados à infecção por *L. infantum* durante o estudo transversal foram: presença de caso (s) prévio de LVC na residência; possuir quintal de terra ou barranco; presença de esterco no quintal; cão ter porte grande; pelo curto e dormir em quintal/canil/casinha.
- A incidência da infecção canina nos grupos avaliados após 12 meses foi de 13,2/1000 cães/mês na área sem coleira e 5,1/1000 cães/mês na área com coleira;
- A efetividade da coleira impregnada com inseticida deltametrina na redução da incidência da LVC foi de 50,8% quando analisada por intenção de tratar e de 61,4% quando seguida por protocolo.
- A efetividade da coleira, através do modelo de Cox, quando ajustada por presença de folhas no quintal; onde o cão fica: quintal/canil/casinha/outros lugares; se o cão foge para rua e usa shampoo contra pulgas e carrapatos foi de 50% quando analisada por intenção de tratar e 60% por protocolo, ajustada por pela presença de folhas no quintal; presença de outros animais; moradores com escolaridade do ensino médio ao superior completo; onde o cão fica: quintal/canil/casinha/outros lugares e se o cão usa shampoo contra pulgas e carrapatos.

8. CONCLUSÃO

A cidade de Governador Valadares/MG, Brasil que já foi considerada uma área controlada de LV atualmente é uma área re-emergente da doença, demonstrada pela alta prevalência e incidência da LVC. A presença de caso (s) prévio de LVC na residência, de quintal de terra ou barranco; de esterco no quintal; de o cão ter porte grande; de o cão ter pelo curto; e dormir em quintal/canil/casinha, são fatores de risco associados à infecção por *L. infantum* neste município.

No que tange a utilização das coleiras em larga escala, verificou-se que esta estratégia se mostrou efetiva e reduziu a incidência da LVC. Todavia, há de se considerar questões fundamentais para sua implementação, como renovação da população canina, a substituição dos dispositivos perdidos e a troca periódica. A utilização da coleira impregnada com inseticida poderá ser uma medida complementar ao controle da LV, contribuindo como um importante avanço da estratégia de controle, por ser uma medida de baixo impacto ambiental e boa aceitabilidade pelos proprietários dos animais.

Estudar o impacto da associação de novas medidas de controle, como exemplo, se a imunização vacinal de cães associada ao uso de coleira é capaz de reduzir a prevalência da LVC e a incidência da doença canina e humana em áreas de alta endemicidade.

10.1 Termo de consentimento livre e esclarecido



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Avaliação da eficácia do uso de coleiras impregnadas

com deltametrina no controle da Leishmaniose Visceral Canina



Informação ao proprietário do animal

Você está sendo convidado a participar da pesquisa que deseja avaliar a eficácia do uso de coleiras impregnadas com deltametrina. Para isto será necessário encoleirar o animal ou não e acompanhá-los por um período de aproximadamente dois anos em intervalos de seis meses. Este trabalho está sendo desenvolvido em parceria com a Secretaria Municipal de Saúde de Governador Valadares e para que ele aconteça precisamos que você possa nos receber em seu domicílio e nos permita realizar a intervenção em seu cão. Antes deste procedimento será realizada a coleta de sangue no cão para verificar se ele está ou não com leishmaniose. A coleta do sangue periférico será realizada através de punção da jugular ou da veia braquiorradial sem anestesia. Caso o exame dê resultado positivo no teste de triagem (DPP), que faremos agora em sua residência, será realizada outra análise utilizando outro teste e caso este confirme a positividade, a Gerência de Zoonoses entrará em contato com o senhor (a) para o recolhimento do animal, pois segundo o Ministério da Saúde, estes casos representam risco à saúde pública. Os animais positivos no teste de triagem não participarão da pesquisa. Caso o resultado do teste de triagem seja negativo o animal participará do estudo recebendo ou não a coleira. Retornaremos a sua residência, a partir daí de 6 em 6 meses para coleta de sangue e re-encoleirar os animais selecionados. Nós também realizaremos um entrevista com o senhor(a) avaliando seu conhecimento sobre a doença, o vetor (mosquito) e o cão, além de questões associadas ao animal, domicílio e peridomicílio. Pedimos que você colabore respondendo ao questionário.

Ninguém poderá obrigá-lo a participar do estudo, mas contamos com a sua compreensão já que essas informações e esta nova vacina são de extrema importância para auxiliar as ações de controle da leishmaniose visceral em toda cidade de Governador Valadares, inclusive em seu bairro. O seu nome e seu endereço não aparecerão em nenhum momento da pesquisa. Você poderá fazer quantas perguntas quiser, sendo um prazer para nós respondê-las. É importante ressaltar que o senhor (a) tem a completa liberdade de se recusar a participar ou retirar seu consentimento, em qualquer momento da pesquisa. Se você estiver de acordo em participar e contribuir com o desenvolvimento desta pesquisa, assine ou marque com sua digital no espaço abaixo. Desde já agradecemos a sua participação.

Nome completo: _____

Assinatura: _____ Governador Valadares, ____/____/2014

Este trabalho faz parte do doutorado em Ciências Biológicas da aluna Gleisiane Gomes de Almeida Leal do Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas (NUPEB) da Universidade Federal de Ouro Preto, orientada pelo Professor Alexandre Barbosa Reis.

Para qualquer informação ou reclamação sobre o estudo entre em contato conosco:

Gleisiane Gomes de Almeida Leal: fone: (31) 3559-1694;

Endereço: Universidade Federal de Ouro Preto, Instituto de Ciências Exatas e Biológicas, Laboratório de Imunopatologia, Campus Universitário, Morro do Cruzeiro, Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil.

Comitê de Ética no uso de Animal: Endereço:

Universidade Federal de Ouro Preto-Campus Universitário

Morro do Cruzeiro-Ouro Preto, Minas Gerais CEP: 35400-000 ICEB II PROPP SALA 29

E-mail: ceua@propp.ufop.br Telefone: (31)-3559-1368

10.2 Ficha de identificação do proprietário

IDENTIFICAÇÃO DO IMÓVEL	CODIFICAÇÃO	
Data: ____/____/____		
Bairro: _____ Rua (Av): _____ nº _____ Comp _____ Setor _____ Nome do Proprietário: _____ Tel fixo: _____ Celular: _____	Bairro Rua	Propri
Código da casa (CTM): _____		
Você já teve algum cachorro com leishmaniose? 0 () Não 1 () Sim 9 () NR Se sim, há quanto tempo? _____	CAOLVC TEMPCAO _____	<input type="checkbox"/>
Esta casa já foi borrifada com inseticida para leishmaniose, pela prefeitura? 0 () Não 1 () Sim 7 () NS 9 () NR Se sim, há quanto tempo? _____	BORRIF TEMPBOR _____	<input type="checkbox"/>
Tipo de residência: 1 () Casa independente 4 () Núcleo familiar 2 () Comércio 5 () Apartamento 3 () Casa geminada 6 () Outro: _____	MORAD	<input type="checkbox"/>
Número de cômodos: _____	NCOMODO.	<input type="checkbox"/>
Número de quartos: _____	NQUARTO	<input type="checkbox"/>
Número de pessoas que residem: _____	NPESSO	<input type="checkbox"/>
Há quintal na residência? 0 () Não 1 () Sim 9 () NR	QUINTAL	<input type="checkbox"/>
Se sim, como é o quintal? 0 () Cimentado 1 () Terra 2 () Barranco 3 () Cimento+terra 8 () NA	CQUINT	<input type="checkbox"/>
O que há no quintal da residência? Obs: Marque com X no que há no quintal. a) HAQCP () Canteiro de plantas ou horta f) HAQAR () Árvores b) HAQBA () Bananeiras g) HAQES () Esterco c) HAQLX () Lixo exposto d) HAQET () Entulhos (monte de madeira, telhas, tijolos) e) HAQMO () Monte de folhas, frutos caídos e tronco pobre no quintal	a. HAQCP b. HAQBA c. HAQLX d. HAQET e. HAQMO f. HAQAR g. HAQES	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Quais e quantos animais você tem em casa? Obs: Marque com X nos animais que a pessoa tem. a) ANIQG () Galinhas _____ e) ANIQCH () Cachorros _____ b) ANIQP () Porcos _____ f) ANIQPS () Passarinhos _____ c) ANIQCG () Cavalos/gado _____ g) ANIQOT () Outros. Quais? _____ d) ANIQGT () Gatos _____ e quantos _____	a. ANIQG b. ANIQP c. ANIQCG d. ANIQGT e. ANIQCH f. ANIQPS g. ANIQOT	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Vocês já viram este mosquito? 0 () Não 1 () Sim 9 () NR	VERMOSQ	<input type="checkbox"/>
Se sim, onde você já viu este mosquito? Obs: Marque com X nos locais que a pessoa respondeu.	a. MOSDC b. MOSG c. MOSCC	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

a) MOSDC () Dentro de casa b) MOSG () Galinheiro c) MOSCC () Casinha do cachorro	d) MOSQ () Quintal e) MOSC () Curral f) MOSCH () Chiqueiro g) MOSOT () Outros: _____	d. MOSQ e. MOSC f. MOSCH g. MOSOT	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Quantas televisões em cores há na residência? 0 () 1 () 2 () 3 () 4 ou + ()	TV		
Quantos rádios há na residência? 0 () 1 () 2 () 3 () 4 ou + ()	RADIO		
Quantos banheiros há na residência? 0 () 1 () 2 () 3 () 4 ou + ()	BANHEIRO		
Quantos automóveis há na residência? 0 () 1 () 2 () 3 () 4 ou + ()	CARRO		
Quantos empregados mensalistas há na residência? 0 () 1 () 2 () 3 () 4 ou + ()	EMPREG		
Quantas máquinas de lavar há na residência? 0 () 1 () 2 () 3 () 4 ou + ()	MLAVAR		
Quantos vídeos cassete/DVD há na residência? 0 () 1 () 2 () 3 () 4 ou + ()	DVD		
Quantas geladeiras há na residência? 0 () 1 () 2 () 3 () 4 ou + ()	GELAD		
Quantos freezers (ou parte da geladeira duplex) há na residência? 0 () 1 () 2 () 3 () 4 ou + ()	FREEZER		
Escolaridade do chefe da família: 1 () Analfabeto/Primário incompleto (até 3ª Série Fundamental) 2 () Primário completo/ ginasial incompleto (até 4ª Série Fundamental) 3 () Fundamental ou ginasial completo/ Médio ou colegial incompleto 4 () Médio ou Colegial completo/Superior incompleto 5 () Superior completo	ESCOLRE		<input type="checkbox"/>
Sua casa é: 1 () própria 2 () alugada 3 () em financiamento	CASA		<input type="checkbox"/>

10.3 Ficha de avaliação do cão

Ficha do cão		
Nome do proprietário: _____		PROPRIFC
Grupo do animal: 0 () sem coleira 1 () com coleira		GRUPO <input type="checkbox"/>
Recebeu a coleira? 0 () Não 1 () Sim 8 () NA (grupo sem coleira) Quando foi encoleirado? ___/___/_____		Coleira <input type="checkbox"/> Qcoleira <input type="checkbox"/>
Resultado DPP: 0 () Neg 1 () Posit		DPP1 <input type="checkbox"/>
Resultado ELISA: 0 () Neg 1 () Posit 2 () Indet 3 () Não realizado		ELISA1 <input type="checkbox"/>
Código da amostra (laboratório): _____		COD _____
Nome do cão: _____ Idade: _____ Cor: _____		Nome _____ Idade _____
Sexo: 0 () Macho 1 () Fêmea / Raça: _____		SEXOCAO <input type="checkbox"/>
Porte do cão: 0 () Pequeno 1 () Médio 2 () Grande		PORTE <input type="checkbox"/>
Tipo de pelo: 0 () Longo 1 () Curto		PELO <input type="checkbox"/>
O cão já utilizou coleira com inseticida, contra leishmaniose? 0 () Não 1 () Sim 9 () NR 7 () NS Se sim, há quanto tempo? ___		COLANT <input type="checkbox"/> QTCOL _____
Este cão já fez exames de sangue para leishmaniose? 0 () Não 1 () Sim 9 () NR 7 () NS Se sim, há quantas vezes? ___		EXAMLVC <input type="checkbox"/> QUANTVZ _____
Qual resultado do último exame? 0 () Negativo 1 () positivo 7 () NS		RESULT <input type="checkbox"/>
Você leva este cão ao veterinário? 0 () Não 1 () Sim 9 () NR 7 () NS Quantas vezes ao ano? _____		VETER <input type="checkbox"/> QVET _____
O cão foi vacinado contra leishmaniose? 0 () Não 1 () Sim 9 () NR 7 () NS		VACINAD <input type="checkbox"/>
Se sim, com qual vacina? 0 () Leishmune 1 () LeishTec 2 () ambas 8 () NA 9 () NR 7 () NS		QUALVAC <input type="checkbox"/>
Quando o animal foi vacinado? 0 () este ano 1 () ano passado 2 () há mais de um ano		QUANDVAC <input type="checkbox"/>
Onde o cão fica a maior parte do tempo? 0 () Dentro de casa 2 () Na varanda 4 () No quintal 7 () NS 1 () No canil/casinha 3 () Na rua 5 () outros _____		ONDFIC <input type="checkbox"/>
Onde o cachorro dorme? 0 () Dentro de casa 2 () Na varanda 4 () No quintal 7 () NS 1 () No canil/casinha 3 () Na rua 5 () outros _____		ONDDORM <input type="checkbox"/>
O cachorro foge muito para a rua? 0 () Não 1 () Sim 9 () NR 7 () NS		CFPGE <input type="checkbox"/>
Há quanto tempo o cão esta morando com a família nesta residência? 1 () Meses: _____ 2 () anos: _____ 9 () NR 7 () NS		QTCMOR <input type="checkbox"/>
Você já viu este carrapato em seu cão? 0 () Não 1 () Sim 9 () NR 7 () NS Se sim, há quanto tempo? ___		CARRAP <input type="checkbox"/> QTCARRAP _____
O cão já utilizou regularmente shampoo contra pulgas e carrapatos? 0 () Não 1 () Sim 9 () NR 7 () NS Se sim, há quanto tempo? ___		SHAMPOO <input type="checkbox"/> QTSHAMP _____
O cão já utilizou regularmente spray de citronela no corpo contra insetos? 0 () Não 1 () Sim 9 () NR 7 () NS Se sim, há quanto tempo? ___		CITRON <input type="checkbox"/> QTCITRO _____
Este animal apresenta sintomas de leishmaniose? 0 () Não 1 () Sim 7 () NS		APSINT <input type="checkbox"/>
Quais sintomas? Marque com X os sintomas que você está vendo no cão.		a. QSINTPL <input type="checkbox"/>

a) () Peladeira	h () Conjuntivite	b. QSINTUN	
b) () Aumento da unha	i () Desânimo	c. QSINTPO	
c) () Pelo opaco	j () Emagrecimento	d. QSINTCP	
d) () Come pouco	k () Diarreia	e. QSINTCO	
e) () Coriza	l () Vômito	f. QSINTAB	
f) () Aumento da barriga	m () Não anda direito	g. QSINTMA	
g) () Machucado: pele, orelhas, focinho e articulações		h. QSINTCJ	
NOME DO ENTREVISTADOR: _____		i. QSINTDM	
		j. QSINTEM	
		k. QSINTDI	
		l. QSINTVO	
		m. QSINTAD	

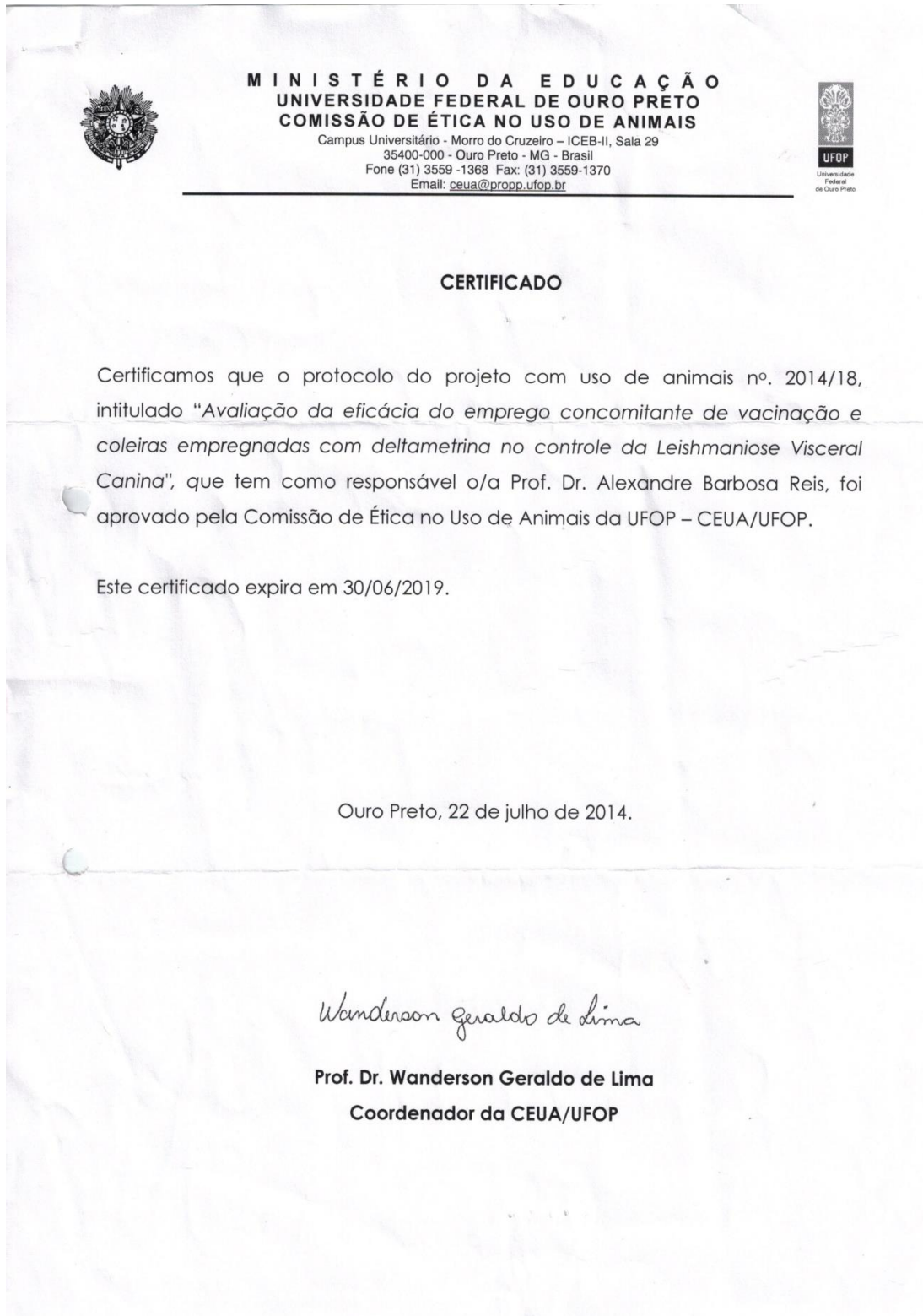
10.4 Ficha do primeiro retorno

FICHA DE RETORNO 1		CODIFICAÇÃO
Código da amostra na primeira coleta: «codlab»		CODLAB
Data da primeira coleta: «data»		
Bairro: «bairro» Rua (Av): «rua» nº «numcasa» Comp: «compcasa» Setor: «setor» Nome do Proprietário: «propri» Tel fixo: «telfix» Celular: «telcel»		
Nome do cão: «nome» Idade(em meses): «idade» Cor: «cor»		
Sexo: MACHO Porte: «porte» Pelo: «pelo»		
Grupo do animal: COLEIRA		GRUPO1 <input type="checkbox"/>
O animal foi encoleirado em: «qcoleira»		
Data do retorno: ___/___/_____		DATAR1
O animal estava com a coleira no momento do retorno? 0 () Não 1 () Sim 8 () Grupo sem coleira		COLR1
O animal apresentou alguma reação à coleira? 0 () Não 1 () Sim 8 () Grupo sem coleira		REACR1
Se sim qual? _____		
O cão foi vacinado contra leishmaniose? 0 () Não 1 () Sim 9 () NR 7 () NS		VACINAD1 <input type="checkbox"/>
Se sim, com qual vacina? 0 () Leishmune 1 () LeishTec 2 () ambas 8 () NA 9 () NR 7 () NS		QUALVAC1 <input type="checkbox"/>
Quando o animal foi vacinado? 0 () este ano 1 () ano passado 2 () há mais de um ano		QUANDVAC1 <input type="checkbox"/>
Este animal apresenta sintomas de leishmaniose? 0 () Não 1 () Sim 7 () NS		APSINT1 <input type="checkbox"/>
Quais sintomas? Marque com X os sintomas que você está vendo no cão. a) () Peladeira h () Conjuntivite b) () Aumento da unha i () Desânimo c) () Pelo opaco j () Emagrecimento d) () Come pouco k () Diarreia e) () Coriza l () Vômito f) () Aumento da barriga m () Não anda direito g) () Machucado: pele, orelhas, focinho e articulações		a. QSINTPL1 <input type="checkbox"/> b. QSINTUN1 <input type="checkbox"/> c. QSINTPO1 <input type="checkbox"/> d. QSINTCP1 <input type="checkbox"/> e. QSINTCO1 <input type="checkbox"/> f. QSINTAB1 <input type="checkbox"/> g. QSINTMA1 <input type="checkbox"/> h. QSINTCJ1 <input type="checkbox"/> i. QSINTDM1 <input type="checkbox"/> j. QSINTEM1 <input type="checkbox"/> k. QSINTDI1 <input type="checkbox"/> l. QSINTVO1 <input type="checkbox"/> m. QSINTAD1 <input type="checkbox"/>
NOME DO ENTREVISTADOR: _____		
Resultado DPP: 0 () Neg 1 () Posit		DPPR1 <input type="checkbox"/>
Resultado ELISA: 0 () Neg 1 () Posit 2 () Indet 3 () Não realizado		ELISAR1 <input type="checkbox"/>
Código da amostra (laboratório): _____		CODR1 _____
Recebeu a coleira novamente? 0 () Não 1 () Sim 8 () Grupo sem coleira		COLEIRAR1 <input type="checkbox"/>
Quando foi novamente encoleirado? ___/___/_____		QCOLEIRAR1

10.5 Ficha do segundo retorno

FICHA DE RETORNO 2		CODIFICAÇÃO
Código da amostra na primeira coleta: 8436		CODLAB
Data da segunda coleta: 3/5/2015		
Bairro: CARAPINA Rua (Av): CAETES nº 158 Comp: Setor: B Nome do Proprietário: ARIETE NOGUEIRA Tel fixo: 32711592 Celular:		
Nome do cão: KIKA Idade(em meses): 48 Cor: CARAMELO		
Sexo: 1 Porte: 0 Pelo: 1		
Grupo do animal: 0		GRUPO2 <input type="checkbox"/>
O animal foi encoleirado em:		
Data do retorno: ___/___/_____		DATAR2
O animal estava com a coleira no momento do retorno? 0 () Não 1 () Sim 8 () Grupo sem coleira		COLR2
O animal apresentou alguma reação à coleira? 0 () Não 1 () Sim 8 () Grupo sem coleira		REACR2
Se sim qual? _____		
O cão foi vacinado contra leishmaniose? 0 () Não 1 () Sim 9 () NR 7 () NS		VACINAD2 <input type="checkbox"/>
Se sim, com qual vacina? 0 () Leishmune 1 () LeishTec 2 () ambas 8 () NA 9 () NR 7 () NS		QUALVAC2 <input type="checkbox"/>
Quando o animal foi vacinado? 0 () este ano 1 () ano passado 2 () há mais de um ano		QUANDVAC2 <input type="checkbox"/>
Este animal apresenta sintomas de leishmaniose? 0 () Não 1 () Sim 7 () NS		APSINT2 <input type="checkbox"/>
Quais sintomas? Marque com X os sintomas que você está vendo no cão. a) () Peladeira h () Conjuntivite b) () Aumento da unha i () Desânimo c) () Pelo opaco j () Emagrecimento d) () Come pouco k () Diarreia e) () Coriza l () Vômito f) () Aumento da barriga m () Não anda direito g) () Machucado: pele, orelhas, focinho e articulações NOME DO ENTREVISTADOR: _____		a. QSINTPL2 <input type="checkbox"/> b. QSINTUN2 <input type="checkbox"/> c. QSINTPO2 <input type="checkbox"/> d. QSINTCP2 <input type="checkbox"/> e. QSINTCO2 <input type="checkbox"/> f. QSINTAB2 <input type="checkbox"/> g. QSINTMA2 <input type="checkbox"/> h. QSINTCJ2 <input type="checkbox"/> i. QSINTDM2 <input type="checkbox"/> j. QSINTEM2 <input type="checkbox"/> k. QSINTDI2 <input type="checkbox"/> l. QSINTVO2 <input type="checkbox"/> m. QSINTAD2 <input type="checkbox"/>
Resultado DPP: 0 () Neg 1 () Posit		DPPR2 <input type="checkbox"/>
Resultado ELISA: 0 () Neg 1 () Posit 2 () Indet 3 () Não realizado		ELISAR2 <input type="checkbox"/>
Código da amostra (laboratório): _____		CODR2 _____
Recebeu a coleira novamente? 0 () Não 1 () Sim 8 () Grupo sem coleira Quando foi novamente encoleirado? ___/___/_____		COLEIRAR2 <input type="checkbox"/> QCOLEIRAR2

11.1 Aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais-CEUA/UFOP



11.2 Apoio da Diretoria de Vigilância Ambiental



SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE DE MINAS GERAIS
 SUB SECRETARIA DE VIGILÂNCIA E PROTEÇÃO À SAÚDE
 SUPERINTENDENCIA DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA, AMBIENTAL E SAÚDE DO TRABALHADOR
 DIRETORIA DE VIGILÂNCIA AMBIENTAL – SUB.VPS/SES-MG

Declaração

A Diretoria de Vigilância Ambiental – SVEAST/SES-MG manifesta seu apoio ao desenvolvimento do Projeto de Pesquisa da "Avaliação do emprego concomitante de vacinação e coleiras impregnadas com deltametrina no controle da Leishmaniose Visceral Canina" que será realizado no município de Governador Valadares, sob coordenação geral do Professor Doutor Alexandre Barbosa Reis, no âmbito do auxílio na capacitação de agentes do município para o desenvolvimento das atividades relacionadas ao levantamento e monitoramento da fauna de flebotomíneos e no contexto do diagnóstico da LVC de acordo com o protocolo preconizado pelo Ministério da Saúde (TR-DPP e ELISA) dentro da amplitude e possibilidade da SES/MG.

Estamos à disposição.

Belo Horizonte, 06 de dezembro de 2013.


Alexandra Paiva Araújo Vieira
Alexandra Paiva Araújo Vieira
 Farmacêutica - CRF-MG 17937

Referência Técnica dos Programas de Controle
 da Leishmaniose Visceral Canina
 e Doença de Chagas


Mariana Gontijo de Brito
Mariana Gontijo de Brito
 Coordenadora de Zoonoses e Vigilância
 de Fatores de Riscos Biológicos
 DVA/SVEAST/Sub.VPS/SES MG
 Masp.: 0385804-0

Marcela Lencine Ferraz
Marcela Lencine Ferraz
 Diretora de Vigilância Ambiental
 SVEAST/SUB/VPS/SES-MG
 Masp: 1 205 600 8

11.3 Convênio entre o município de Governador Valadares e a UFOP



**Prefeitura Municipal de
Governador Valadares
Estado de Minas Gerais**



**Universidade Federal de
Ouro Preto**

**CONVÊNIO QUE ENTRE SI CELEBRAM O MUNICÍPIO
DE GOVERNADOR VALADARES E A UNIVERSIDADE
FEDERAL DE OURO PRETO.**

SEC. JUR.

01819

Pelo presente Convênio, de um lado o **MUNICÍPIO DE GOVERNADOR VALADARES**, com sede na Rua Marechal Floriano, 905, Centro, CEP 35.010-141, em Governador Valadares, Minas Gerais, adiante denominada, simplesmente **MUNICÍPIO**, inscrito no CNPJ/MF sob o nº 20.622.890/0001-80, neste ato representada por sua Prefeita Elisa Maria Costa, brasileira, divorciada, residente e domiciliada na Rua Raul Soares, 1.259/Apto 202 Bairro São Pedro, em Governador Valadares, Minas Gerais, portador da Carteira de Identidade nº MG 931.304, expedida pela SSP/MG e CIC nº 304.573.006-04, e de outro lado a **UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO**, pessoa jurídica de direito público, com sede na Rua Diogo de Vasconcelos, 122, Bairro Pilar, em Ouro Preto, Minas Gerais, doravante denominada **UFOP**, inscrita no CNPJ/MF sob o nº 23.070.659/0001-10, neste ato representada por seu Reitor, Prof. Dr. Marcone Jamilson Freitas Souza, brasileiro, casado, professor universitário, residente e domiciliado na Rua Domingos Barroso, 71, bairro Saramenha, em Ouro Preto, MG, portador da Carteira de Identidade nº 1.231.987, expedida pela SSP/MG e CPF nº 327.235.476-04, firmam o presente Convênio, tendo em vista o disposto na Lei nº 11.788, de 25 de setembro e na Lei nº 8.666, de 21 de junho de 1993, com suas alterações posteriores, e mediante o estabelecido nas cláusulas seguintes:

CLÁUSULA PRIMEIRA – Do Objeto

Avaliação concomitante de vacinação empregando a vacina desenvolvida na UFOP (LBSap) e produzida pela empresa Ourofino Agronegócio e de coleiras impregnadas com deltametrina em cães no controle da Leishmaniose Visceral Canina no município de Governador Valadares, MG-Brasil.


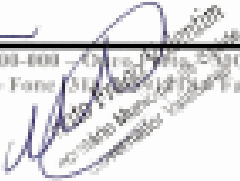


CLÁUSULA SEGUNDA – Dos Compromissos

2.1 – Compete ao **MUNICÍPIO**:

2.1.1 – Ampliar o corpo técnico disponibilizando um total de 20 agentes de saúde para atuar no Programa de Controle da Leishmaniose Visceral (PCLV) conduzido pelo Centro de Zoonoses da secretaria municipal de saúde de Governador Valadares, que atualmente conta com 6 (seis) agentes saúde neste programa.

2.1.2 – Providenciar meio de transporte adequado bem como motoristas (mínimo de dois) dentro do **MUNICÍPIO** para execução das atividades relacionadas ao PCLV e ao estado acordado bem como combustível para os veículos.

Rua Diogo de Vasconcelos, 122 – CEP : 35.400-000 – Ouro Preto, MG – Brasil
Home Page : www.ufop.br - e-mail: reitoria@ufop.br - Fone: (31) 3559-1218

11.4 Termo de doação da coleira pelo Ministério da Saúde



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
SCS – Quadra 4 Bloco A – Ed Principal
70304-000 Brasília-DF - Tel.: 3213 - 8157/8156

TERMO DE DOAÇÃO

Em 06/12/2013, a Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde, por meio do Grupo Técnico das Leishmanioses/CGDT/DEVIT/SVS/MS fez a parceria com a Universidade Federal de Ouro Preto Projeto de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico do Grupo de Pesquisa em Leishmaniose, apoiando o projeto de pesquisa intitulado “Avaliação do emprego concomitante de vacinação e coleiras impregnadas com deltametrina no controle da Leishmaniose Visceral Canina”. A pesquisa será realizada no município de Governador Valadares-MG sob responsabilidade do pesquisador Dr. Alexandre Barbosa Reis.

O projeto supracitado terá duração de dois anos, e serão realizados quatro encoleiramentos durante o período totalizando a utilização de 12.000 coleiras.

As coleiras serão encaminhadas para o Centro de Controle de Zoonoses de Governador Valadares-MG aos cuidados da Sra. Aimara Costa Pinheiro. Com isso, afirmamos o compromisso desse Ministério em apoiar a qualidade e cientificidade do projeto em questão. Espera-se que os resultados obtidos nessa pesquisa subsidiem discussões e decisões a respeito das medidas de controle da leishmaniose visceral.

Brasília, 06 de dezembro de 2013.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Francisco Edilson Ferreira de Lima Júnior', written over a faint circular stamp.

Francisco Edilson Ferreira de Lima Júnior
Grupo Técnico das Leishmanioses
UVTV/CGDT/DEVIT/SVS/MS

12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acedo-Sánchez, C., Martín Sánchez, J., Vélez-Bernal, I.D., Sanchis Marin, M.C., Louassini, M., Maldonado, J.A., Morillas Márquez, F. (1996). Leishmaniasis ecoepidemiology in the Alpujarra region (Granada Province, southern Spain). *Int. J. Parasitol.* 26: 303-310.

Aguiar-Soares, R.D., Roatt, B.M., Ker, H.G., Moreira, N.D., Mathias, F.A., Cardoso, J.M., Gontijo, N.F., Bruna-Romero, O., Teixeira-Carvalho, A., Martins-Filho, O.A., Corrêa-Oliveira, R., Giunchetti, R.C., Reis, A.B. (2014). LBSapSal-vaccinated dogs exhibit increased circulating T-lymphocyte subsets (CD4⁺ and CD8⁺) as well as a reduction of parasitism after challenge with *Leishmania infantum* plus salivary gland of *Lutzomyia longipalpis*. *Parasit Vectors.* 7: 61.

Alexander, B., Maroli, M. (2003). Control of phlebotomine sandflies. *Med Vet Entomol.* 17: 1-18.

Alvar J., Yactayo S., Bern C. (2006). Leishmaniasis and poverty. *Trends Parasitol.* 22: 552-557.

Alvar, J., Aparicio, P., Aseffa, A., Den Boer, M., Canavate, C., Dedet, J.P., Gradoni, L., Ter Horst, R., Lopez-Velez, R., Moreno, J. (2008). The relationship between leishmaniasis and AIDS: the second 10 years. *Clin Microbiol Ver.* 21: 334-359.

Alvar, J., Vélez, I.D., Bern, C., Herrero, M., Desjeux, P., Cano, J., Jannin, J., den Boer, M.; WHO Leishmaniasis Control Team. (2012). Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *PLoS One.* 7(5):e35671.

Alves, W.A., Bevilacqua, P.D. (2004). Quality of diagnosis of canine visceral leishmaniasis in epidemiological surveys: an epidemic in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, 1993-1997. *Cad Saude Publica.* 20: 259-265.

Alves, A.S., Mouta-Confort, E., Figueiredo, F.B., Oliveira, R.V., Schubach, A.O., Madeira, M.F. (2012). Evaluation of serological cross-reactivity between canine visceral leishmaniasis and natural infection by *Trypanosoma caninum*. *Res Vet Sci.* 93: 1329-1333.

Alves, E.B. (2016). Avaliação da efetividade do uso das coleiras impregnadas com inseticida para o controle da Leishmaniose Visceral no município de Montes Claros, MG. Tese de Doutorado em Saúde Coletiva, Rio de Janeiro: UFRJ / Instituto de Estudos em Saúde Coletiva.

Almeida, A.B., Sousa, V.R., da Cruz, F.A., Dahroug, M.A., Figueiredo, F.B., Madeira, M. F. (2012). Canine visceral leishmaniasis: seroprevalence and risk factors in Cuiabá, Mato Grosso, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet.* 21(4): 359-65.

Andrade, B.B., de Oliveira, C.I., Brodskyn, C.I., Barral, A., Barral-Netto, M. (2007). Role of sand fly saliva in human and experimental leishmaniasis: current insights. *Scand J Immunol.* 66: 122-127.

Andrade, R.A., Reis, A.B., Gontijo, C.M., Braga, L.B., Rocha, R.D., Araújo, M.S., Vianna, L.R., Martins-Filho, O.A. (2007). Clinical value of anti-*Leishmania (Leishmania) chagasi* IgG titers detected by flow cytometry to distinguish infected from vaccinated dogs. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 116: 85-97.

Aoun, K., Chouih, E., Boufaden, I., Mahmoud, R., Bouratbine, A., Bedoui, K. (2008). Efficacy of Deltamethrine-impregnated collars Scalibor in the prevention of canine leishmaniasis in the area of Tunis. *Arch Inst Pasteur Tunis.* 85: 63-8.

Arias, J.R., Monteiro, P.S., Zicker, F.M.D. (1996). The Reemergence of Visceral Leishmaniasis in Brazil. *Emerging Infectious Diseases*. 2: 145-146.

Arruda, M.M., Figueiredo, F.B., Cardoso, F.A., Hiamamoto, R.M., Brazuna, J.C., de Oliveira, M.R., Noronha, E.F., Romero, G.A. (2013). Validity and reliability of enzyme immunoassays using *Leishmania major* or *L. infantum* antigens for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis in Brazil. *PLoS One*. 8(7) e69988.

Ashford, R.W. (2000). The leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses. *Int J Parasitol*. 30: 269-81.

Badaró, R., Jones, T.C., Carvalho, E.M. et al. (1986). New perspectives on a subclinical form of visceral leishmaniasis. *J. Inf. Dis*. 154: 1003-1011.

Barata, R.A., Silva, J.C.F.D.; Costa, I.D.T. (2004). Flebotomíneos em Porteirinha, uma área de transmissão de leishmaniose visceral americana no Estado de Minas Gerais, Brasil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 99(5):481- 487.

Barata, R.A., Paz, G.F., Bastos, M.C., Andrade, R.C.O., Barros, D.C.M., Lara-Silva, F.O., Michalsky, E.M., Pinheiro, A.C., Dias, E.S. (2011). Phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) from Governador Valadares, a transmission area of American Tegumentary Leishmaniasis in State of Minas Gerais, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 44: 136-139.

Barata, R.A., Peixoto, J.C., Tanure, A., Gomes, M.E., Apolinário, E.C., Bodevan, E.C.; Araújo, H.S., Dias, E.S., Pinheiro, A.C. (2013). Epidemiology of Visceral Leishmaniasis in a Reemerging Focus of Intense Transmission in Minas Gerais State, Brazil. *Bio Med Res Intern*. 2013: 6.

Bastien, P., Blaineau, C., Pages, M. (1992). Leishmaniasis: sex, lies and karyotype. *Parasitol. Today*. 8: 174-176.

Bhattacharya, S.K., Sur, D., Karbwang, J. (2006). Childhood visceral leishmaniasis. *Indian J Med Res*. 123(3):353-6.

Belo, V.S., Werneck, G.L., Barbosa, D.S., Simões, T.C., Nascimento, B.W., da Silva, E.S., Struchiner, C.J. (2013). Factors associated with visceral leishmaniasis in the Americas: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis*. 25: 2182.

Bern, C., Joshi, A.B., Jha, S.N., Das, M.L., Hightower, A., Thakur, G.D., Bista, M.B. (2000). Factors associated with visceral leishmaniasis in Nepal: Bed-net use is strongly protective. *Am J Trop Med Hyg*. 63: 184-188.

Berrahal, F., Mary, C., Roze, M., Berenger, A., Escoffier, K., Lamouroux, D., Dunan, S. (1996). Canine leishmaniasis: identification of asymptomatic carriers by polymerase chain reaction and immunoblotting. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 55: 273-277.

Borges, B.K.A., Silva, J.A., Haddad, J.P.A., Moreira, E.C., Magalhães, D.F., Ribeiro, L.M.L., Fiúza, V.O.P. (2009). Presença de animais associada ao risco de transmissão da leishmaniose visceral em humanos em Belo Horizonte, Minas Gerais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 61: 1035-1043.

Borja-Cabrera, G.P., Santos, F.N., Bauer, F.S., Parra, L.E., Menz, I., Morgado, A.A., Soares, I. S., Batista, L.M., Palatnik-de-Sousa, C.B. (2008). Immunogenicity assay of the Leishmune vaccine against canine visceral leishmaniasis in Brazil. *Vaccine*. 26: 4991-7.

Brasil. (2006). Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de Vigilância e Controle de Leishmaniose Visceral. Brasília: Ministério da Saúde, p.120.

Brasil. (2011). Esclarecimento sobre substituição do protocolo diagnóstico da leishmaniose visceral canina; Nota Técnica Conjunta n° 01/2011 - CGDT-CGLAB / Devit / SVS / MS.

Brasil. (2012). Saúde Brasil 2011: Uma análise da situação de saúde e a vigilância da saúde da mulher. Secretaria de vigilância em saúde, Brasília, Brasil. 65-66p.

Brasil (2017). <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/secretarias/svs/leishmaniose-visceral-iv> (acesso em 20 /02/2017).

Brazil, R.P. (2013). The dispersion of *Lutzomyia longipalpis* in urban areas. *Rev Soc Bras Med Trop*. 46: 263-264.

Brianti, E., Napoli, E., Gaglio, G., Falsone, L., Giannetto, S., Solari Basano, F., Nazzari, R., Latrofa, M.S., Annoscia, G., Tarallo, V.D., Stanneck, D., Dantas-Torres, F., Otranto, D. (2016). Field Evaluation of Two Different Treatment Approaches and Their Ability to Control Fleas and Prevent Canine Leishmaniasis in a Highly Endemic Area. *PLoS Negl Trop Dis*. 10(9):e0004987.

Cabral, M., O'Grady, J. E., Gomes, S., Sousa, J. C., Thompson, H., Alexander, J. (1998). The immunology of canine leishmaniasis: strong evidence for a developing disease spectrum from asymptomatic dogs. *Vet Parasitol*. 76(3):173-80.

Camargo-Neves, V.L.F., Rodas, L.A.C., Pauliquévis Jr., C. (2004). "Avaliação da efetividade da utilização de coleiras impregnadas com deltametrina a 4% para o controle da leishmaniose visceral americana no Estado de São Paulo: resultados preliminares." São Paulo: Boletim. Epidemiológico. Paulista-BEPA. a 1.

Carrión, J., Folgueira, C., Soto, M., Fresno, M., Requena, J.M. (2011). *Leishmania infantum* HSP70-II null mutant as candidate vaccine against leishmaniasis: a preliminary evaluation. *Parasit Vectors*. 27: 4:150.

Cassini, R., Signorini, M., DI Regalbono, A.F., Natale, A., Montarsi, F., Zanaica, H., Bricchese, H., Simonato, L., Borgato, S., Babiker, A., Pietrobelli, M. (2013). Preliminary study of the effects of preventive measures on the prevalence of Canine Leishmaniasis in a recent establish focus in northern Italy. *Veterinaria Italiana*. 49:157-161.

Chagas, E. (1936). Visceral Leishmaniasis in Brazil. *Science*. 30: 84(2183):397-8.

Chagas, E., Cunha, A.M., Ferreira, L.C., Deane, L., Deane, G., Guimarães, F.N., Paumgarten, M.J., Sá, B. (1938). Leishmaniose visceral americana (relatório dos trabalhos realizados pela comissão encarregada do estudo da leishmaniose visceral americana em 1937). *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 33: 189-229.

Coelho, M.V., Falcão, A.R. (1966). Aspectos epidemiológicos do calazar em Minas Gerais. *Jorn Bras Med.* 10: 259-262.

Conti, R.V., Moura Lane, V.F., Montebello, L., Pinto Junior, V.L. (2016). Visceral leishmaniasis epidemiologic evolution in timeframes, based on demographic changes and scientific achievements in Brazil. *J Vector Borne Dis.* 53(2): 99-104.

Costa, C.H.N., Gomes, R.B.B., Silva, M.R.B., Garcez, L.M., Ramos, P.K.S., Santos, R.S., Shaw, J.J., David, J.R., Miguire, J.H. (2000). Competence of the human host as a reservoir for *Leishmania chagasi*. *J Infect Dis.* 182: 997-1000.

Costa, C.H. (2011). 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.* 44: 232-242.

Costa-Val, A.P., Cavalcanti, R.R., de Figueiredo Gontijo, N., Michalick, M.S., Alexandre, B., Williams, P., Melo, M.N. (2007). Canine visceral leishmaniasis: relationships between clinical status, humoral immune response, haematology and *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* infectivity. *Vet J.* 174: 636-43.

Coura-Vital, W., Marques, M.J., Veloso, V.M., Roatt, B.M., Aguiar-Soares, R.D., Reis, L.E., Braga, S.L., Morais, M.H., Reis, A.B., Carneiro, M. (2011). 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.* 5(8): 1291.

Coura-Vital, W., Reis, A.B., Fausto, M.A., Leal, G.G.A., Marques, M.J., Veloso, V.M., Carneiro, M. (2013a). Risk factors for seroconversion by *Leishmania infantum* in a cohort of dogs from an endemic area of Brazil. *PLoS One.* 22: 71833.

Coura-Vital, W., Reis, A.B., Reis, L.E., Braga, S.L., Roatt, B.M., Aguiar Soares, R.D., Marques, M.J, Veloso, V.M., Carneiro, M. (2013b). Canine visceral leishmaniasis: incidence and risk factors for infection in a cohort study in Brazil. *Vet Parasitol.* 197(3-4): 411-7.

Coura-Vital, W., Ker, H.G., Roatt, B.M., Aguiar-Soares, R.D., Leal, G.G.A, Moreira, N.D., Oliveira, L.A., de Menezes Machado, E.M., Morais, M.H., Corrêa-Oliveira, R., Carneiro, M., Reis, A.B. (2014). Evaluation of change in canine diagnosis protocol adopted by the visceral leishmaniasis control program in Brazil and a new proposal for diagnosis. *PLoS One.* 9(3):91009.

Courtenay, O., Gillingwater, K., Gomes, P.A.F., Garcez, L.M., Davies, C.R. (2007). Deltamethrin impregnated bednets reduce human landing rates of sandfly vector *Lutzomyia longipalpis* in Amazon households. *Med Vet Entomol.* 21: 168-176.

Courtenay, O., Kovacic, V., Gomes, P.A., Garcez, L.M., Quinnell, R.J. (2009). A long-lasting topical deltamethrin treatment to protect dogs against visceral leishmaniasis. *Med Vet Entomol.* 23(3): 245-56.

Cunha, A.M., Chagas, E. (1937). New species of protozoa of the genus *Leishmania* pathogenic to man *Leishmania chagasi* n. sp previous note. *Hospital (Rio de Janeiro).* 11: 3-9.

Dantas-Torres, F. (2006). Current epidemiological status of visceral leishmaniasis in Northeastern Brazil. *Rev. Saude Publica.* 40: 537-541.

Dantas-Torres, F. & Brandão-Filho, S. P. (2006). Visceral Leishmaniasis In Brazil: revisiting paradigms of epidemiology and control. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo* 48(3): 151-156.

Dantas-Torres, F., Solano-Gallego, L., Baneth, G., Ribeiro, V. M., de Paiva-Cavalcanti, M., Otranto, D. (2012). Canine leishmaniosis in the Old and New Worlds unveiled similarities and differences. *Trends Parasitol.* 28(12): 531-8.

David, J.R., Stamm, L.M., Bezerra, H.S., Souza, R.N., Killick-Kendrick, R., Lima, J.W.O. (2001). Deltamethrin-impregnated dog collars have a potent anti-feeding and insecticidal effect on *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia migonei*. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 96: 839-847.

Davoust, B., Roqueplo, C., Parzy, D., Watier-Grillot, S., Marié, J.L. (2013). A twenty-year follow-up of canine leishmaniosis in three military kennels in southeastern France. *Parasit Vectors.* 6(1): 323.

Deane L.M., Deane M.P. (1954). Dogs naturally infected by *Leishmania donovani* in Ceará. *Hospital.* 45: 703-707.

Deane, L.M. (1956). Leishmaniose Visceral no Brasil. Estudos sobre reservatórios e transmissores realizados no estado do Ceará. Tese de Doutorado em Parasitologia, Rio de Janeiro: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. 162 p.

Deane, L.M., Deane, M.P. (1962). Visceral leishmaniasis in Brazil: Geographical distribution and transmission. *Rev Inst de Med Trop São Paulo.* 4: 198-212.

Desjeux, P. (2001). The increase in risk factors for leishmaniasis worldwide. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 95: 239-243.

Desjeux, P. (2004). Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 27, 305-318.

Dye, C. (1996). The logic of visceral leishmaniasis control. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 55: 125-130.

Fernandes, A.R., Pimenta, C.L., Vidal, I.F., Oliveira, G.C., Sartori, R.S., Araújo, R.B., Melo, M.A., Langoni, H., Azevedo, S.S. (2016). Risk factors associated with seropositivity for *Leishmania* spp. and *Trypanosoma cruzi* in dogs in the state of Paraíba, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet.* 25(1): 90-8.

Fernandes, A.P., Costa, M.M.S., Coelho, F.A.F., Michalick, M.S.M., Freitas.E., Melo, N.M., Tafuti, W.L., Resende, D.M., Hermont, V., Abrantes, C.F., Gazzinelli, R.T. (2008). Protective immunity against challenge with *Leishmania (Leishmania) chagasi* in beagle dogs vaccinated with recombinant A2 protein. *Vaccine.* 26: 588895.

Fernández-Cotrina, J., Iniesta, V., Belinchón-Lorenzo, S., Muñoz-Madrid, R., Serrano, F., Parejo, J.C., Gómez-Gordo, L., Soto, M., Alonso, C., Gómez-Nieto, L.C. (2013). Experimental model for reproduction of canine visceral leishmaniosis by *Leishmania infantum*. *Vet. Parasitol.* 192: 118-28.

Ferreira, E.C., de Lana, M., Carneiro, M., Reis, A.B., Paes, D.V., et al. (2007). Comparison of serological assays for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis in animals presenting different clinical manifestations. *Vet Parasitol.* 146: 235- 241.

Ferroglio, E., Poggi, M., Trisciuglio, A. (2008). Evaluation of 65% permethrin spot-on and deltamethrin-impregnated collars for canine leishmania infantum infection prevention. *Zoonoses Public Health.* 55: 145-148.

Foglia-Manzillo, V., Oliva, G., Pagano, A., Manna, L., Maroli, M., Gradoni, L. (2006). Deltamethrin-impregnated collars for the control of canine leishmaniasis: Evaluation of the protective effect and influence on the clinical outcome of leishmania infection in kennelled stray dogs. *Vet Parasitol.* 142: 142-145.

Fraga, D.B., Pacheco, L.V., Borja, L.S., Tuy, P.G., Bastos, L.A., Solcà, M.S, Amorim, L.D., Veras, P.S. (2016). The rapid test based on *Leishmania infantum* chimeric rK28 protein improves the diagnosis of canine visceral leishmaniasis by reducing the detection of false-positive dogs. *PLoS Negl Trop Dis.* 10(1): e0004333.

França-Silva, J.C., da Costa, R.T., Siqueira, A.M., Machado-Coelho, G.L., da Costa, C.A., Mayrink, W., Vieira, E.P., Costa, J.S., Genaro, O., Nascimento, E. (2003). Epidemiology of canine visceral leishmaniosis in the endemic area of Montes Claros Municipality, Minas Gerais State, Brazil. *Veterinary parasitology.* 111: 161-173.

França-Silva, J.C., Barata, R.A., Costa, R.T., Monteiro, E.M., Machado-Coelho, G.L., Vieira, E.P., Prata, A., Mayrink, W., Nascimento, E., Fortes-Dias, C.L., da Silva, J.C., Dias, E.S. (2005). Importance of *Lutzomyia longipalpis* in the dynamics of transmission of canine visceral leishmaniasis in the endemic area of Porteirinha Municipality, Minas Gerais, Brazil. *Vet Parasitol.* 131: 213-220.

Fujiwara, R.T., Vale, A.M., Franca da Silva, J.C., da Costa, R.T., Quetz, J.D.A.S., Martins Filho, O.A., et al. (2005). Immunogenicity in dogs of three recombinant antigens (TSA, LeIF and LmSTI1) potential vaccine candidates for canine visceral leishmaniasis. *Vet. Res.* 36:827-38.

Fundação Ezequiel Dias - Instituto Octávio Magalhães (LACEN-MG). (2013). Divisão de Epidemiologia e Controle de Doenças - Serviço de Doenças Parasitárias: relatórios de produção de exames DPP- Equipes de campo e laboratórios da rede LVC/MG- de 2012-2013. p. 5-6.

Genaro, O. (1993). Leishmaniose visceral canina experimental. Tese de Doutorado em Parasitologia, Belo horizonte: Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais. 202 p.

Giffoni, J.H., de Almeida, C.E., dos Santos, S.O., Ortega, V.S., de Barros, A.T. (2002). Evaluation of 65% permethrin spot-on for prevention of canine visceral leishmaniasis: effect on disease prevalence and the vectors (Diptera: Psychodidae) in a hyperendemic area. *Vet Ther.* 3(4): 485-92.

Giunchetti, R.C., Correa-Oliveira, R., Martins-Filho, O.A., Teixeira-Carvalho, A., Roatt, B.M., de Oliveira Aguiar-Soares, R.D., de Souza, J.V., das Dores Moreira, N., Malaquias, L.C., Mota e Castro, L.L., de Lana, M., Reis, A.B. (2007). Immunogenicity of a killed leishmania vaccine with saponin adjuvant in dogs. *Vaccine.* 25: 7674-7686.

Giunchetti, R.C., Correa-Oliveira, R., Martins-Filho, O., Teixeira-Carvalho, A., Roatt, B.M., Aguiar-Soares, R.D.O., Coura-Vital, W., Abreu, R.T., Malaquias, L.C., Gontijo, N.F., Broskyn, C., Oliveira, C.I., Costa, D.J., Lana, M., Reis, A.B. (2008a). A killed *Leishmania* vaccine with sand fly saliva extract and saponin adjuvant displays improved immunogenicity in dogs. *Vaccine*. 26: 623-638.

Giunchetti, R.C., Reis, A.B., da Silveira-Lemos, D., Martins-Filho, O.A., Correa-Oliveira, R., Bethony, J., Vale, A.M., da Silva Quetz, J., Bueno, L.L., Franca-Silva, J.C., Nascimento, E., Mayrink, W. and Fujiwara, R.T. (2008b). Antigenicity of a whole parasite vaccine as promising candidate against canine leishmaniasis. *Res Vet Sci*. 85: 106-112.

Gontijo, B., Carvalho, M.L.R. (2003). Leishmaniose Tegumentar Americana. *Rev Soc Bras Med Trop*. 36(1): 71-80.

Goyena, E., Pérez-Cutillas, P., Chitimia, L., Risueño, J., García-Martínez, J.D., Bernal, L.J., Berriatua, E. (2016). A cross-sectional study of the impact of regular use of insecticides in dogs on Canine Leishmaniosis seroprevalence in southeast Spain. *Prev Vet Med*. 124: 78-84.

Gradoni, L. (2001). An update on anti-leishmanial vaccine candidates and prospects for a canine leishmania vaccine. *Vet Parasitol*. 100: 87-103.

Gramiccia, M. (2011). Recent advances in leishmaniosis in pet animals: Epidemiology, diagnostics and anti-vectorial prophylaxis. *Vet Parasitol*. 181:23-30.

Grimaldi, G. Jr., Tesh, R. B., McMahon-Pratt, D. A. (1989). Review of the geographic distribution and epidemiology of leishmaniasis in the New World. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 41(6): 687-725.

Grimaldi, G. Jr., Teva, A., Santos, C. B., Ferreira, A. L., Falqueto, A. (2012a). The effect of removing potentially infectious dogs on the numbers of canine *Leishmania infantum* infections in an endemic area with high transmission rates. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 86(6): 966-71.

Grimaldi, G. Jr., Teva, A., Ferreira, A.L., Dos Santos, C.B., Pinto, I.D., de-Azevedo, C.T., Falqueto, A. (2012b). Evaluation of a novel chromatographic immunoassay based on Dual-Path Platform technology (DPP® CVL rapid test) for the serodiagnosis of canine visceral leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 106: 54-9.

Halbig, P., Hodjati, M.H., Mazloumi-Gavvani, A.S., Mohite, H., Davies, C.R. (2000). Further evidence that deltamethrin-impregnated collars protect domestic dogs from sandfly bites. *Med Vet Entomol*. 14(2): 223-6.

Harhay, M.O., Olliaro, P.L., Costa, D.L., Costa, C.H. (2011). Urban parasitology: visceral leishmaniasis in Brazil. *Trends Parasitol*. 27(9): 403-9.

Hommel, M., Jaffe, C.L., Travi, B., Milon, G. (1995). Experimental models for leishmaniasis and for testing anti-leishmanial vaccines. *Ann Trop Med Parasitol*. 89:55-73.

IBGE. (2017). <http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?codmun=312770> (acesso em 20/03/2017).

Kelly, P.H., Bahr, S.M., Serafim, T.D., Ajami, N.J., Petrosino, J.F., Meneses, C., Kirby, J.R., Valenzuela, J.G., Kamhawi, S., Wilson, M.E. (2017). The gut microbiome of

the vector *Lutzomyia longipalpis* is essential for Survival of *Leishmania infantum*. MBio. 8(1): e01121-16.

Killick-Kendrick, R. (1990). Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review. Med Vet Entomol. 4:1- 24.

Killick-Kendrick, R., Killick-Kendrick, M., Focheux, C., Dereure, J., Puech, M.P., Cadiergues, M.C. (1997). Protection of dogs from bites of phlebotomine sandflies by deltamethrin collars for control of canine leishmaniasis. Med Vet Entomol. 11(2):105-11.

Killick-Kendrick, R. (1999). The biology and control of phlebotomine sand flies. Clin Dermatol. 17(3):279-89.

Kuhls, K., Alam, M.Z., Cupolillo, E., Ferreira, G.E.M., Mauricio, I.L. (2011). Comparative Microsatellite Typing of New World *Leishmania infantum* reveals low heterogeneity among populations and its recent old world origin. Plos Negl Trop Dis: e 1156.

Lainson, R., Shaw, J. J. (1987). Evolution, classification and geographical distribution. In: Peters, Killick-Kendrick. The Leishmaniasis in Biology and Medicine; London, Academic Press. 1: 1-20.

Lainson, R., Rangel, E. F. (2005). *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil: a review. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 100(8): 811-27.

Lara-Silva, F.O., Michalsky, É.M., Fortes-Dias, C.L., Fiuza V.O., Pessanha, J.E., Regina-Silva, S., de Avelar, D.M., Silva, M.A., Lima, A.C., da Costa, A.J., Machado-Coelho, G.L., Dias, E.S. (2015). Epidemiological aspects of vector, parasite, and domestic reservoir in areas of recent transmission and no reported human cases of visceral leishmaniasis in Brazil. Acta Trop. 148: 128-36.

Leblois, R., Kuhls, K., François, O., Schönian, G., Wirth, T. (2011). Guns, germs and dogs: on the origin of *Leishmania chagasi*. Infect. Genet. Evol. 11: 1091-1095.

Leça-Júnior, N.F., Guedes, P.E., Santana, L.N., Almeida, V.A., Carvalho, F.S., Albuquerque, G.R., Wenceslau, A.A., Munhoz, A.D., Silva, F.L. (2015). Epidemiology of canine leishmaniasis in southern Bahia, Brazil. Acta Trop. 148: 115-9.

Lemesre, J.L., Holzmüller, P., Gonçalves, R.B., Bourdoiseau, G., Hugnet, C., Cavaleyra, M., et al. (2007). Long-lasting protection against canine visceral leishmaniasis using the LiESAp-MDP vaccine in endemic areas of France: double-blind randomised efficacy field trial. Vaccine. 25: 4223-34.

Lira, R.A.O., Cavalcanti, M.P.O., Nakazawa, M.O., Ferreira, A.G.O., Silva, E.D.O., Abath, F.G.O., Alves, L.C., Souza, W.V., Gomes Y.M. (2006). Canine visceral leishmaniasis: a comparative analysis of the EIE-leishmaniosevisceral-canina-Bio-Manguinhos and the IFI-leishmaniose-visceralcanina-Bio-Manguinhos kits. Vet. Parasitol. 137: 11-16.

Lopes, P.M., Sorte, E.C., Gasparetto, N.D., Oliveira, C.M., Almeida, A.B., Sousa, V.R. (2014). Seroprevalence and risk factors associated with visceral leishmaniasis in dogs in Jaciara, State of Mato Grosso. Rev. Soc Bras Med Trop. 47(6): 791-5.

López, K., Tartaglino, L.C., Steinhorst, I.I., Santini, M.S., Salomon, O.D. (2016). Risk factors, representations and practices associated with emerging urban human visceral leishmaniasis in Posadas, Argentina. 36(0): 51-63.

Madeira, M.F., Schubach, A.O., Schubach, T.M., Leal, C.A., Marzochi, M.C. (2004). Identification of *Leishmania (Leishmania) chagasi* isolated from healthy skin of symptomatic and asymptomatic dogs seropositive for leishmaniasis in the municipality of Rio de Janeiro, Brazil. Braz. J. Infect. Dis. 8(6): 440-4.

Magalhães, P.A., Mayrink, W., Costa, C.A., Melo, M.N., Batista, S.M., Michalick, M.S.M., Willians, P. (1980). Calazar na Zona do Rio Doce - Minas Gerais. Resultados de medidas profiláticas. Rev Inst Med Trop. 22: 197202.

Maia, Z., Viana, V., Muniz, E., Gonçalves, L.O., Mendes, C.M., Mehta, S.R., Badaro, R. (2016). Risk factors associated with human visceral leishmaniasis in an urban area of Bahia, Brazil. Vector Borne Zoonotic Dis. 16(6): 368-76.

Malaquias, L.C., do Carmo Romualdo, R., do Anjos, J.B., Jr., Giunchetti, R.C., Correa-Oliveira, R., Reis, A.B. (2007). Serological screening confirms the re-emergence of canine leishmaniosis in urban and rural areas in Governador Valadares, Vale do Rio Doce, Minas Gerais, Brazil. Parasitol Res. 100: 233-239.

Mancianti, F., Gramiccia, M., Gradoni, L., Pieri, S. (1988). Studies on canine leishmaniasis control. 1. Evolution of infection of different clinical forms of canine leishmaniasis following antimonial treatment. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 82: 566-567.

Maroli, M., Mizzon, V., Siragusa, C., D'Oorazi, A., Gradoni, L. (2001). 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. 15: 358-363.

Martins, V.T., Duarte, M.C., Chávez-Fumagalli, M.A., Menezes-Souza, D., Coelho, C.S., Magalhães-Soares, D.F., Fernandes, A.P., Soto, M., Tavares, C.A., Coelho, E.A. (2015). A *Leishmania*-specific hypothetical protein expressed in both promastigote and amastigote stages of *Leishmania infantum* employed for the serodiagnosis of, and as a vaccine candidate against, visceral leishmaniasis. Parasit Vectors. 8: 363.

Martin-Sanchez, J., Morales-Yuste, M., Acedo-Sanchez, C., Baron, S., Diaz, V., Morillas-Marquez, F. (2009). Canine leishmaniasis in southeastern Spain. Emerg Infect Dis. 15: 795-798.

Marzochi, M.C., Coutinho, S.G., de Souza, W.J., de Toledo, L.M., Grimaldi, J.G., Momen, H., Pacheco, R.S., Sabroza, P.C., de Souza, M.A., Rangel Junior, F.B. (1985). Canine visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro, Brazil. Clinical, parasitological, therapeutical and epidemiological findings (1977-1983). Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 80: 349-357.

Mauel, J. (2002). Vaccination against leishmania infections. Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord. 2: 201-226.

Mauricio, I.L., Howard, M.K., Stothard, J.R., Miles, M.A. (1999). Genomic diversity in the *Leishmania donovani* complex. Parasitology. 119: 237-46.

Mayrink, W., Williams, P., Coelho, M.V., Dias, M., Martins, A.V., Magalhães, P.A. (1979). Epidemiology of dermal leishmaniasis in the Rio Doce Valley, State of Minas Gerais, Brazil. *Ann Trop Med Parasitol.* 73: 1-14.

Mazloumi-Gavvani, A.S., Hodjati, M.H., Mohite, H., Davies, C.R. (2002). Effect of insecticide-impregnated dog collars on incidence of zoonotic visceral leishmaniasis in Iranian children: a matched-cluster randomised trial. *Lancet.* 360(9330): 374-379.

Migone, L.E. (1913). Un caso de Kalazar en Assunción (Paraguay). *Bull Soc Pathol Exot.* 6: 118-120.

Michalsky, E.M., Guedes, K.S., Lara-Silva F.O.L., França-Silva, J.S., Fortes Dias, C.L., Barata, R.A., Dias, E.S. (2011). Infecção natural de *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Diptera: Psychodidae) por *Leishmania infantum chagasi* em flebotômíneos capturados no município de Janaúba, Estado de Minas Gerais, Brasil. *Rev. Soc. Bras. Med. Tropic.* 44(1): 58-62.

Molina, R., Amela, C., Nieto, J., San-Andres, M., Gonzalez, F., Castillo, J.A., Lucientes, J., Alvar, J. (1994). Infectivity of dogs naturally infected with *Leishmania infantum* to colonized *Phlebotomus perniciosus*. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 88: 491-493.

Mondal, D., Das, M.L., Kumar, V., Huda, M.M., Das, P., Ghosh, D., Priyanka, J., Matlashewski, G., Kroeger A., Ufill-Brown, A., Chowdhury, R. (2016). Efficacy, safety and cost of insecticide treated wall lining, insecticide treated bed nets and indoor wall wash with lime for visceral leishmaniasis vector control in the Indian Sub-continent: A multi-country cluster randomized controlled trial. *PLoS Negl Trop Dis.* 10(8): e0004932.

Monteiro, E.M., da Silva, J.C., da Costa, R.T., Costa, D.C., Barata, R.A., de Paula, E.V., Machado-Coelho, G.L., Rocha, M.F., Fortes-Dias, C.L., Dias, E.S. (2005). Visceral leishmaniasis: a study on phlebotomine sand flies and canine infection in Montes Claros, State of Minas Gerais. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 8: 147-152.

Moreira, E.D., de Souza, V.M.M., Sreenivasan, M., Lopes, N.L., Barreto, R.B., de Carvalho, L.P. (2003). Peridomestic risk factors for canine leishmaniasis in urban dwellings: new findings from a prospective study in Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 69: 393-7.

Moreira, N.D., Giunchetti, R.C., Carneiro, C.M., Vitoriano-Souza, J., Roatt, B.M., Malaquias, L.C., Correa-Oliveira, R. and Reis, A.B. (2009). Histological study of cell migration in the dermis of hamsters after immunisation with two different vaccines against visceral leishmaniasis. *Vet Immunol Immunopathol.* 128: 418-424.

Moreno, J., Alvar, J. (2002). Canine leishmaniasis: epidemiological risk and the experimental model. *Trends Parasitol.* 18: 399-405.

Moreno, E.C., Melo, M.N., Genaro, O., Lambertucci, J.R., Serufo, J.C., Andrade, A.S., Antunes, C.M., Carneiro, M. (2005). Risk factors for *Leishmania chagasi* infection in an urban area of Minas Gerais State. *Rev Soci Bras Med Trop.* 38: 456-463.

Moreno, J., Vouldoukis, I., Martin, V., McGahie, D., Cuisinier, A.M. and Gueguen, S. (2012). Use of a liesp/qa-21 vaccine (canileish) stimulates an appropriate th1-dominated cell-mediated immune response in dogs. *PLoS Negl Trop Dis.* 6: e1683.

Nackers, F., Mueller, Y.K., Salih, N., Elhag, M.S., Elbadawi, M.E., Hammam, O., Mumina, A., Atia, A.A., Etard, J.F., Ritmeijer, K., Chappuis, F. (2015). Determinants of visceral leishmaniasis: A case-control study in Gedaref State, Sudan. *PLoS Negl Trop Dis.* 6; 9(11).

Nicolle, C., Comte, C. (1908). Origine canine du Kala-azar. *Bull Soc. Pathol. Exot.* 1: 299-301.

Noli, C., Auxilia, S.T. (2005). Treatment of canine Old World visceral leishmaniasis: a systematic review. *Vet Dermatol* 16: 213-232.

Oliveira, J.M., Fernandes, A.C., Dorval, M.E.C., Alves, T.P., Fernandes, T.D., Oshiro, E.T., et al. (2010). Mortalidade por leishmaniose visceral: aspectos clínicos e laboratoriais. *Rev Soc Bras Med Trop.* 43: 188-193.

Otranto, D., Dantas-Torres, F. (2013). The prevention of canine leishmaniasis and its impact on public health. *Trends Parasitol.* 29(7):339-45.

Palatnik-de-Sousa, C.B., Dos Santos, W.R., Franca-Silva, J.C., Da Costa, R.T., Reis, A.B., Palatnik, M., Mayrink, W., Genaro, O. (2001). Impact of canine control on the epidemiology of canine and human visceral leishmaniasis in Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 65: 510-517.

Palatnik-de-Sousa, C.B., Day, M.J. (2011). One Health: the global challenge of epidemic and endemic leishmaniasis. *Parasitol Vectors.* 4:197.

Parvizi, P., Mazloumi-Gavani, A.S., Davies, C.R., Courtenay, O., Ready, P.D. (2008). Two *Leishmania* species circulating in the Kaleybar focus of infantile visceral leishmaniasis, northwest Iran: implications for deltamethrin dog collar intervention. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 102(9): 891-7.

Penna, H.A. (1934). Leishmaniose visceral no Brasil. *Brit. Med. Jornal.* 48: 949-5.

Pimentel, D.S., Ramos, R.A., Santana, M.de A., Maia, C.S., de Carvalho, G.A., da Silva, H.P., Alves, L.C. (2015). Prevalence of zoonotic visceral leishmaniasis in dogs in an endemic area of Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 48(4): 491-3.

Prates, D.B., Santos, L.D., Miranda, J.C., Souza, A.P., Palma, M.S., Barral-Netto, M., Barral A. (2008). Changes in amounts of total salivary gland proteins of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) according to age and diet. *J Med Entomol.* 45(3): 409-13.

Quinnell, R.J., Dye, C., Shaw, J.J. (1992). Host preferences of the phlebotomine sandfly *Lutzomyia longipalpis* in Amazonian Brazil. *Med Vet Entomol.* 6(3):195-200.

Quinnell, R.J., Courtenay, O., Davidson, S., Garcez, L., Lambson, B., Ramos, P., Shaw, J.J., Shaw, M.A., Dye, C. (2001). Detection of *Leishmania infantum* by PCR, serology and cellular immune response in a cohort study of Brazilian dogs. *Parasitology.* 122(Pt 3):253-61.

Quinnell, R.J., Courtenay, O. (2009). Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis. *Parasitology.* 136(14): 1915-34.

Ravindran, R., Ali, N. (2004). Progress in vaccine research and possible effector mechanisms in visceral leishmaniasis. *Curr Mol Med.* 4: 697-709.

Regina-Silva, S., Feres, A.M., França-Silva, J.C., Dias, E.S., Michalsky, E.M., de Andrade, H.M., Coelho, E.A., Ribeiro, G.M., Fernandes, A.P., Machado-Coelho, G.L. (2016). Field randomized trial to evaluate the efficacy of the Leish-Tec® vaccine against canine visceral leishmaniasis in an endemic area of Brazil. *Vaccine*. 34(19):2233-9.

Reis, A.B., Teixeira-Carvalho, A., Giunchetti, R.C., Guerra L.L., Carvalho, M.G., Mayrink, W., Genaro, O.; Correa-Oliveira, R.; Martins-Filho, O.A. (2006). Phenotypic features of circulating leucocytes as immunological markers for clinical status and bone marrow parasite density in dogs naturally infected by *Leishmania chagasi*. *Clin. Exp. Immunol.* 146: 303-311.

Reis, A.B., Martins-Filho, O.A., Teixeira-Carvalho, A., Carneiro, C.M., Giunchetti, R.C., Mayrink, W., Tafuri, W.L., Corrêa-Oliveira, R. (2009). Systemic and compartmentalized immune responses in canine visceral leishmaniasis. *Vet Immunol Immunopa.* 128: 87-95.

Reis, A.B., Giunchetti, R.C., Carrillo, E., Martins-Filho, O.A., Moreno, J. (2010). Immunity to *Leishmania* and the rational search for vaccines against canine visceral leishmaniasis. *Trends Parasitol.* 26: 341-349.

Reithinger, R., Teodoro, U., Davies, C.R. (2001). Topical insecticide treatments to protect dogs from sand fly vectors of leishmaniasis. *Emerg Infect Dis.* 7(5):872-6.

Reithinger, R., Coleman, P.G., Alexander, B., Vieira, E.P., Assis, G., Davies, C.R. (2004). Are insecticide-impregnated dog collars a feasible alternative to dog culling as a strategy for controlling canine visceral leishmaniasis in Brazil? *Int J Parasitol.* 34: 55-62.

Resende, L.A., Roatt, B.M., Aguiar-Soares, R.D., Viana, K.F., Mendonça, L.Z., Lanna, M.F., Silveira-Lemos, D., Corrêa-Oliveira, R., Martins-Filho, O.A., Fujiwara, R.T., Carneiro, C.M., Reis, A.B., Giunchetti, R.C. (2013). Cytokine and nitric oxide patterns in dogs immunized with LBSap vaccine, before and after experimental challenge with *Leishmania chagasi* plus saliva of *Lutzomyia longipalpis*. *Vet Parasitol.* 198(3-4): 371-81.

Ribeiro, J.M., Francischetti, I.M. (2003). Role of arthropod saliva in blood feeding: sialome and post-sialome perspectives. *Ann Rev Entomol.* 48: 73-88.

Ribeiro, J.M.C., Mans, B.J., Arca, B. (2010). An insight into the sialome of blood feeding nematocera. *Insect. Biochem. Mol. Biol.* 40(11): 767-784.

Ribeiro, V.M., da Silva, S.M., Menz, I., Tabanez, P., dos Santos Werkhauser, da Fonseca, A.L., Dantas-Torres, F. (2013). Control of visceral leishmaniasis in Brazil: recommendations from Brazil Leish. *Vetores Parasit.* 6 (1): 8.

Ritmeijer, K., Davies, C., van Zorge, R., Wang, S.J., Schorscher, J., Dongu'du, S.I., Davidso, R.N. (2007). Evaluation of a mass distribution programme for fine-mesh impregnated bednets against visceral leishmaniasis in eastern Sudan. *Trop Med Inter Health.* 12: 404-414.

Roatt, B.M., Aguiar-Soares, R.D., Vitoriano-Souza, J., Coura-Vital, W., Braga, S.L., Correa-Oliveira, R., Martins-Filho, O.A., Teixeira-Carvalho, A., de Lana, M., Gontijo, N.F., Marques, M.J., Giunchetti, R.C. and Reis, A.B. (2012). Performance of lbsap vaccine after intradermal challenge with *L. infantum* and saliva of *Lu. longipalpis*: Immunogenicity and parasitological evaluation. *PLoS One.* 7: e49780.

Romero, G.A., Boelaert, M. (2010). Control of visceral leishmaniasis in Latin America- a systematic review. PLoS. Negl. Trop. Dis. 4: e584.

Rosario, E.Y., Genaro, O., Franca-Silva, J.C., da Costa, R.T., Mayrink, W., Reis, A.B., Carneiro, M. (2005). Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay using crude *Leishmania* and recombinant antigens as a diagnostic marker for canine visceral leishmaniasis. Mem Inst Oswaldo Cruz. 100: 197-203.

Ross, R. (1903). Note on the bodies recently described by Leishman and Donovan. Br Med J Nov 14: 1261-1262.

Rotureau, B., Ravel, C., Aznar, C., Carme, B., Dedet, J.P. (2006). First report of *Leishmania infantum* in French Guiana: canine visceral leishmaniasis imported from the Old World. J Clin Microbiol. 44: 1120-1122.

Sevá, A.P., Ovallos, F.G., Amaku, M., Carrillo, E., Moreno, J., Galati, E.A., Lopes, E.G., Soares, R.M., Ferreira, F. (2016). Canine-Based strategies for prevention and control of visceral leishmaniasis in Brazil. PLoS One. 11(7): e0160058.

Shaw, S. (2003). Leishmaniasis. Tijdschr Diergeneeskd. 128(11): 363.

Sherlock, I.A. (1996). Ecological interactions of visceral leishmaniasis in the state of Bahia, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 91(6):671-83.

Silva, V.O., Borja-Cabrera, G.P., Correia-Pontes, N.N., de Souza, E.P., Luz, K.G., Palatnik, M., Palatnik de Sousa, C.B. (2001). A phase III trial of efficacy of the FML-vaccine against canine kala-azar in an endemic area of Brazil (São Gonçalo do Amarante, RN). Vaccine. 19:1082-1092.

Silva, E.S., Gontijo, C.M., Pacheco, R.S., Fiuza, V.O., Brazil, R.P. (2001). Visceral leishmaniasis in the Metropolitan Region of Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 96: 285-291.

Silva, D.A., Madeira, M.F., Teixeira, A.C., de Souza, C.M., Figueiredo, F.B. (2011). Laboratory tests performed on *Leishmania* seroreactive dogs euthanized by the leishmaniasis control program. Vet Parasitol. 179(1-3): 257-61.

Silva, J.P., Werneck, G.L., Macedo, E.C., de Carvalho, H., Cruz, M.S. (2012). Factors associated with *Leishmania chagasi* infection in domestic dogs from Teresina, State of Piauí, Brazil. Rev Soc Bras Med Trop. 45(4): 480-4.

Silva, D.A., Madeira, M.F., Abrantes, T.R., Filho, C.J., Figueiredo, F.B. (2013). Assessment of serological tests for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis. Vet J. 195: 252–253.

Silva, D.A., Madeira, M.F., Figueiredo, F.B. (2015). Geographical expansion of canine visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro state, Brazil. Rev Inst Med Trop. 57(5): 435-8.

Solano-Gallego, L., Llull, J., Ramos, G., Riera, C., Arboix, M., Alberola, J., Ferrer, L. (2000). The Ibizian hound presents a predominantly cellular immune response against natural *Leishmania* infection. Vet. Parasitol. 90: 37-45.

Solano-Gallego, L., Llull, J., Arboix, M., Ferrer, L., Alberola, J. (2001). Evaluation of the efficacy of two leishmanins in asymptomatic dogs. *Vet. Parasitol.* 102: 163-166.

Solano-Gallego, L., Koutinas, A., Miro, G., Cardoso, L., Pennisi, M.G., Ferrer, L., Bourdeau, P., Oliva, G., Baneth, G. (2009). Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. *Vet parasitol.* 165: 1-18.

Sousa, K.C., André, M.R., Herrera, H.M., Andrade, G.B., Jusi, M.M., dos Santos, L.L., Barreto, W.T., Machado, R.Z., de Oliveira, G.P. (2013). Molecular and serological detection of tick-borne pathogens in dogs from an area endemic for *Leishmania infantum* in Mato Grosso do Sul, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet.* 22(4):525-31.

StataCorp. 2009. Stata Statistical Software: Release 11. College Station, TX: StataCorp LP.

Sundar, S. (2015). Visceral leishmaniasis. *Trop Parasitol.* 5(2): 83-5.

Tanure, A., Peixoto, J.C., Afonso, M.M., Duarte, R., Pinheiro, A.C., Coelho, S.V., Barata, R.A. (2015). Identification of sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) blood meals in an endemic leishmaniasis area in Brazil. *Rev Inst Med Trop.* 57(4): 321-4.

Teixeira, C.R., Teixeira, M.J., Gomes, R.B., Santos, C.S., Andrade, B.B., Raffaele-Netto, I., Silva, J.S., Guglielmotti, A., Miranda, J.C., Barral, A., Brodskyn, C., Barral-Netto, M. (2005). Saliva from *Lutzomyia longipalpis* induces CC chemokine ligand 2/monocyte chemoattractant protein-1 expression and macrophage recruitment. *J Immunol.* 175: 8346-8353.

Ursine, R.L., Dias, J.V., Morais, H.A., Pires, H.H. (2016). Human and canine visceral leishmaniasis in an emerging focus in Araçuaí, Minas Gerais: spatial distribution and socio-environmental factors. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 111(8):505-11.

Van den Bos, R.H.C., Oliveira-Lima, J.W., Souza, R.N., Teixeira, M.J., Pompeu, M., David J.R. (2002). Preliminary results of a field trial to evaluate deltamethrin impregnated collars for the control of canine leishmaniasis in northeast Brazil. *Proceedings of the Second International Canine Leishmaniasis Forum.* Sevilla, Spain.

Vexenat, J.A., De Castro, J.A., Cavalcante, R., Tavares, J.P., Da Silva, M.R., Batista, W.H., Campos, J. H., Howard, M. K., Frame, I., Mcnerney, R. (1994). Visceral leishmaniasis in Teresina, State of Piauí, Brazil: preliminary observations on the detection and transmissibility of canine and sandfly infections. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 89: 131-135.

Vitoriano-Souza, J., Reis, A.B., Moreira, N.D., Giunchetti, R.C., Correa-Oliveira, R., Carneiro, C.M. (2008). Kinetics of cell migration to the dermis and hypodermis in dogs vaccinated with antigenic compounds of leishmania braziliensis plus saponin. *Vaccine.* 26: 3922-3931.

Vitoriano-Souza, J., Moreira, N.D, Menezes-Souza, D., Roatt, B.M., de Oliveira Aguiar Soares, R.D., Siqueira-Mathias, F.A., de Oliveira Cardoso, J.M., Giunchetti, R.C., de Sá, R.G., Corrêa-Oliveira, R., Carneiro, C.M., Reis, A.B. (2013). Dogs immunized with LBSap vaccine displayed high levels of IL-12 and IL-10 cytokines and CCL4, CCL5 and CXCL8 chemokines in the dermis. *Mol Immunol.* 56(4): 540-8.

Werneck, G.L. (2008). Forum: geographic spread and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. Introduction. *Cad. Saúde Pública*. 24 no.12.

Werneck, G.L. (2014). Visceral leishmaniasis in Brazil: rationale and concerns related to reservoir control. *Rev Saude Publica*. 48(5): 851-6.

Werneck, G.L. (2016). The control of visceral leishmaniasis in Brazil: end of a cycle?. *Cad Saude Publica*. 32(6): S0102-311X2016000600201.

World Health Organization (WHO). (2010). Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases: First WHO report on neglected tropical diseases. In WHO. Geneva, p. 184.

Young, D.G., Arias, J.R. (1992). Flebótomos Vectores de Leishmaniasis en las Américas. *Caderno Técnico* 33. Washington, DC: Organización Panamericana de Salud.

Zoghalmi, Z., Chouih, E., Barhoumi, W., Dachraoui, K., Massoudi, N., Helel, K.B., Habboul, Z., Hadhri, M.H., Limam, S., Mhadhbi, M., Gharbi, M., Zhioua, E. (2014). Interaction between canine and human visceral leishmaniasis in a holoendemic focus of Central Tunisia. *Acta Trop*. 139:32-8.

Zuben, A.P., Donalísio, M.R. (2016). Difficulties in implementing the guidelines of the Brazilian visceral leishmaniasis control program in large cities. *Cad Saude Publica*. 32(6): S0102-311X2016000600401.